VISIT…

LANZAROTE Caliente.COM

АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

КЛАССИКИ НАУКИ



ФРИДРИХ МИШЕР

ТРУДЫ ПО БИОХИМИИ

Ответственный редактор
академик А. С. СПИРИН

Редакция,
биографический очерк и комментарии
доктора химических наук
А. Н. ШАМИНА



МОСКВА
«НАУКА»
1985

УДК 57(09):577.1

СЕРИЯ «КЛАССИКИ НАУКИ»

Серия основана академиком *С. И. Вавиловым*

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

И. Е. ДЗЯЛОШИНСКИЙ (заместитель председателя), *А. Ю. Ишлинский*, *П. Л. Капица* (председатель), *С. П. Капица*, *Б. М. Кедров*, *И. Л. Кнунянц*, *А. Н. Колмогоров*, *С. Р. Микулинский*, *А. А. Михайлов*, *Л. С. Полак*, *Я. А. Смородинский*, *В. А. Энгельгардт*, *А. Л. Яншин*

Швейцарский ученый Ф. Мишер (1844—1895) — один из основоположников экспериментальной физиологии, гисто- и цитохимии. Имя Ф. Мишера вошло в историю науки благодаря открытию нуклеиновых кислот. Его исследования по нуклеиновым кислотам и работы по физиологии дыхания, которые включены в данное издание, открыли новую эпоху в биологии. Книга снабжена комментарием и очерком жизни и творчества ученого, а также содержит фрагменты научной переписки.

Для химиков, биохимиков, цитологов, физиологов и историков науки.

Рецензенты:

А. А. Баев, Л. Л. Киселев

М $\frac{2001040000\text{-}409}{042(02)\text{-}85}$ 93-85—II

© Издательство «Наука», 1985 г.


ТРУДЫ ПО БИОХИМИИ * ФРИДРИХ МИШЕР *

ОТ РЕДАКЦИИ

Швейцарский физиолог и биохимик Фридрих Мишер (1844—1895) вошел в историю науки как один из основателей цитохимии и цитофизиологии. Им было сделано одно из крупнейших открытий XIX в., в значительной мере изменившее ход развития естествознания,— он впервые выделил и описал нуклеиновые кислоты, а также высказал первые гипотезы об их функциях в клетке. Нуклеиновые кислоты были открыты им в 1869 г., и впоследствии до конца жизни Мишер продолжал интенсивно изучать природу клеточных ядер, поиски веществ, от которых зависело оплодотворение яйцеклетки, а также веществ, с которыми связаны процессы передачи наследственных признаков организмов. Первые работы, посвященные препаративной биохимии нуклеиновых кислот (или нуклеинов, как называл их Мишер и его современники), служили образцом для всех препаративно-биохимических исследований на протяжении более чем полустолетия.

Однако Ф. Мишер известен не только работами по нуклеиновым кислотам. Он выполнил большой цикл исследований по физиологии дыхания, изучал процессы образования икры у лососевых рыб. Ф. Мишер известен также как один из активных и авторитетных деятелей науки, стремившихся к налаживанию новых и более современных форм международного сотрудничества ученых: он инициатор и организатор Первого международного физиологического конгресса в Базеле в 1889 г. (в 1980 г. в Будапеште состоялся уже 28-й Международный физиологический конгресс).

На труды Ф. Мишера ученые продолжают ссылаться до сих пор, однако их подлинные тексты почти неизвестны. Его статьи были напечатаны в малотиражных журналах и сборниках, а переизданные в виде двухтомного собрания его сочинений («Гистохимические и физиологические работы») давно стали библиографической редкостью (в Советском Союзе в Научной библиотеке им. М. Горького Московского университета сохранился лишь один некомплектный экземпляр).

Исключительный интерес представляет эпистолярное наследие Ф. Мишера, прежде всего переписка его со своим дядей, известным эмбриологом и анатомом Вильгельмом Гисом (1831—1904). Создатель идеи «органообразующих участков зародыша», Гис был одним из тех ученых, чьи труды находятся у истоков современных представлений о закономерностях индивидуального развития организмов. Его идеи были близки Ф. Мишеру, и последний делился с ним самыми смелыми и блестящими своими гипотезами, часто намного опережающими время. Переписка Ф. Мишера и В. Гиса — уникальный памятник: это научный и историко-научный документ, совершенно неизвестный современным биохимикам и эмбриологам. Среди писем Мишера интересны и письма к коллегам и друзьям,

в частности к Рудольфу Бёму, работавшему в 1872—1881 гг. профессором фармакологии в Тартуском университете.

Статьи и письма Ф. Мишера изданы В. Гисом и друзьями ученого в 1897 г. после смерти ученого в двух томах под общим названием «Гистохимические и физиологические работы Фридриха Мишера». Переводы в основном сделаны с текста этого сборника. Конкретные указания об использованных материалах даны в «Комментариях».

В настоящем издании представлены наиболее важные и логически связанные публикации Ф. Мишера, прежде всего его исследования по нуклеинам, исследования спермы рейнского лосося и процессов ее образования, а также исключительно интересные своим, как мы сказали бы теперь, системным подходом работы по физиологии дыхания. Кроме того, в издание включены фрагменты научной переписки Мишера. Исключены из перевода лишь малоинтересные для советского читателя письма, касающиеся вопросов организации рационального питания заключенных в Швейцарии.

При публикации весь ссылочный аппарат воспроизведен в том виде, в котором его приводит Ф. Мишер или готовившие его тексты к печати В. Гис и О. Шмидеберг. Унифицированы лишь названия некоторых периодических изданий. Наличие специального каталога научных статей XIX в., изданного Лондонским королевским обществом (Catalogue of scientific papers. London: Royal Society, 1864—1901), позволяет легко получить все дополнительные сведения о цитируемых публикациях, если это понадобится читателю.

Тексты научных работ Ф. Мишера переведены кандидатом биологических наук Е. А. Яновской и доктором биологических наук Н. С. Гельман. Переписка переведена Н. С. Гельман. Комментарии к тексту, а также очерк жизни и творчества Ф. Мишера написаны доктором химических наук А. Н. Шаминым. Им же осуществлены текстологический просмотр и научное редактирование текста издания.

ТРУДЫ

О ХИМИЧЕСКОМ СОСТАВЕ КЛЕТОК ГНОЯ [1*]

До недавнего времени химию гноя исследовали почти исключительно с позиций, имеющих значение для изучения патологических транссудатов. Сейчас к клеткам гноя обратились в связи с исследованием свойств протоплазмы. После известных исследований о происхождении клеток гноя сама собой напрашивалась мысль, что здесь перед нами самый подходящий материал для изучения этого вида клеток, которые в качестве некоторой постоянной величины должны будут отныне фигурировать во многих областях; материал — не безупречный, требующий осторожности при оценке, но единственный легко доступный и потому пригодный как предварительная отправная точка.

Имея это в виду, я попытался получить некоторое представление об основных тканеобразующих веществах, содержащихся в клетках гноя. Я не рассматривал ряд экстрактивных веществ, которые по их количеству и роли не могут считаться существенными тканевыми компонентами. Материал для исследований я получал из Тюбингенской хирургической клиники при любезном содействии ассистентов доктора Бевера и доктора Коха. Они собирали повязки, находившиеся в соприкосновении с операционными ранами, и ежедневно отправляли их в лабораторию, где их сразу же в свежем виде использовали для работы. Если по запаху и виду можно было предположить далеко зашедшее разложение, то материал не использовался. Там, где это было необходимо, проводился, кроме того, особый микроскопический контроль; в этих случаях отбрасывались те порции, которые давали кислую реакцию. Нельзя сказать, что во время этих исследований случай мне благоприятствовал. Ни разу не удалось мне получить большое количество «хорошего» абсцессного гноя, необходимого для точного качественного исследования. В мое распоряжение поступало различное, но, как правило, малое количество, редко более одной-двух унций. Однако гной из хорошо гранулирующих операционных ран имеет то преимущество, что он образовался сравнительно недавно и незадолго до исследования накопился в организме.

Само собой понятно, что я в своих исследованиях имел дело не с физиологически свежими, т. е. живыми, клетками гноя. Поэтому мои результаты требуют поправки на особые обстоятельства. Факт, что даже в рамках узко ограниченной задачи мое изложение является неполным, следует частично объяснить в общем недостаточным поступлением материала, а также несвоевременным прекращением исследования под влиянием внешних обстоятельств [2*].

Первое, что требовалось при данном исследовании, — это отделение клеток от сыворотки. Фильтрование позволяет часто получить некоторое количество прозрачной сыворотки, но это, как правило, лишь небольшая ее часть. От осаждения растворами поваренной соли, которое с успехом применяется при работе с кровяными тельцами, приходится в этом случае отказаться, так как при самых разнообразных концентрациях происходит слизистое набухание всей массы. Я обратился поэтому к растворам других солей. Перепробовав целый ряд солей щелочных и щелочноземельных металлов, в конце концов я остановился на смеси, состоящей из 1 части насыщенного на холоду раствора глауберовой соли и 9 частей воды. В этом растворе, который не вызывал никакого помутнения в прозрачной отфильтрованной сыворотке гноя, вымачивали повязки, пропитанные гноем. Из жидкости, профильтрованной через волокно для удаления хлопковых волоконец, клетки в большинстве своем осаждались так быстро, что обычно уже через 1—2 ч можно было слить мутную жидкость с кашицеобразного осадка. В течение дня промывание повязок можно было повторить 2—3 раза. При повторных смывах осаждение было более полным, сливаемая жидкость — менее мутной. Путем фильтрации удавалось отделить бóльшую часть промывной жидкости от кашицы, содержащей гнойные тельца. Полученные таким образом клетки выглядели под микроскопом сферическими, слегка набухшими, скорее мутными, нежели водянистыми, и при «хорошем» гное без каких бы то ни было следов распада. Описанное Ровида разграничение между мутной зернистой порцией и гиалиновой набухшей спекшейся массой было особенно отчетливым у многих клеток. Такое сильное набухание может быть причиной того, что в случаях использования очень свежего гноя при последующих промываниях, т. е. под влиянием длительного воздействия солевого раствора, происходит слипание в комок. Вымывание имеет еще одно достоинство. Некоторые виды гноя с клетками хорошего качества, например костный гной, содержат значительное количество жира. При промывании этот жир, как и детрит уже разрушенных клеток, остается суспендированным, осадок же, пусть в какой-то мере, остается от них свободным. Гной с большим содержанием жира осаждается очень плохо или вовсе не осаждается. Кроме упомянутого раствора глауберовой соли, я применял для некоторых определенных целей, например для обнаружения в золе щелочных металлов, разбавленный вдвое насыщенный раствор азотнокислого бария, соли, которая была уже по достоинству оценена другими исследователями, работавшими с кровяными тельцами. Этот раствор очень хорошо осаждает клетки, но вызывает помутнение сыворотки гноя. Полученная после третьего промывания (каждый раз в 5—10-кратном объеме по сравнению с объемом осадка) отфильтрованная жидкость дает при кипячении и подкислении лишь незначительные хлопья белка. Внесение промывной жидкости по каплям в большое количество воды не вызывает никакого помутнения, за исключением тех случаев, когда применяется азотнокислый барий, который, по-видимому, сильнее воздействует на клетки. Из сказанного ясно, что потери значительных количеств белка не наблюдается.

1. БЕЛКОВЫЕ ВЕЩЕСТВА ПРОТОПЛАЗМЫ

То, что белки образуют основную массу клеточного вещества, явно следует из факта, что клетки после кипячения со спиртом и водой ведут себя подобно свернувшемуся альбуминовому веществу, которое под действием концентрированной соляной кислоты или едких щелочей претерпевает известное превращение в синтонин или соответственно в альбуминат калия. Лишь небольшая часть осадка, выпавшего под действием разбавленного раствора соляной кислоты, не растворяется в большом количестве воды. Мы увидим, что именно эта часть соответствует, по-видимому, ядерным веществам. Аналогично ведет себя осадок, выпадающий при нейтрализации щелочного раствора. Как и в случае альбуминовых веществ наряду с упомянутым превращением и вслед за ним происходят еще и другие превращения. Более подробная классификация белковых веществ, содержащихся в клетках, была до сих пор затруднена несомненно из-за отсутствия удовлетворительного метода изоляции клеток, так как и в самой сыворотке гноя был обнаружен целый ряд белковых веществ. Отсюда и существенные расхождения во мнениях между авторами.

Давно известной особенностью гноя является его отношение к растворам поваренной соли с концентрацией 3—10% и выше. В процессе разрушения клеток образуется слизистый мутный гель, который осаждается водой; одни сравнивают его с миозином (Гоппе-Зейлер)[1], другие — с фибрином (Хорст, Хейнзиус), который в солях также набухает. Ровида[2] подробно исследовал микроскопическую картину, которая представляется на первых стадиях набухания клеток; после изучения гноя, слюнных телец и бесцветных кровяных телец он пришел к выводу о существовании двух составных частей протоплазмы, резко различающихся между собой. Мои исследования изолированных клеток гноя в этом отношении подтвердили его наблюдения. Уже после 24-часового воздействия раствора глауберовой соли, применяемого для вымывания содержимого из повязок, у многих клеток видна гиалиновая кайма — иногда вокруг остального вещества, чаще по одну сторону; порой она образует полусферические выступы и отростки. Вскоре появляется зернистая сильно преломляющая свет порция — то в виде центральной массы, то как округлый или овальный придаток или кайма в виде полумесяца вокруг гиалинового вещества. В большинстве случаев, но не всегда, ядро находится в зернистой части. Дальнейшие стадии я наблюдал при многодневном воздействии NaCl. Гиалиновые порции все больше и больше увеличиваются в объеме; их вначале весьма отчетливые контуры становятся бледнее и наконец исчезают. Зернистый остаток сохраняет свою форму и преломляющую способность; некоторые еще долго остаются компактными, создавая обманчивую картину сморщенных интактных клеток; некоторые распадаются на мелкие глыбки, между которыми видны голые, несколько набухшие ядра. В какой мере эти структуры предобразованы в живых клетках и играют ли они там

[1] [*Hoppe-Seyler F.*]. Handbuch der physiologisch-chemischen Analyse. S. 363.
[2] Sitzungsbericht der Wiener Akademie. Bd. 56 u. a. a. O.

какую-либо роль, об этом я не могу судить на основании своих наблюдений, проводившихся на мертвых структурах.

Слизистая масса, образовавшаяся в качестве конечного продукта подобного воздействия, никогда не распределяется равномерно в избытке раствора NaCl; также и после многократного встряхивания она снова собирается в слизистые глыбки. Водой гель осаждается хлопьями. Среди зернистых оставшихся неизмененными остатков клеток и видна волокнистая мембранозная масса, которая в значительной степени связывает остатки клеток — явно не что иное, как ранее набухшая субстанция. Эта картина остается неизменной даже после нескольких дней воздействия большим количеством дистиллированной воды. Это гиалиновое вещество, как утверждал Ровида, нельзя сделать растворимым в воде. Выпавшие хлопья в солевом растворе снова образуют гель. Если же дистиллированная вода действовала на эти хлопья или на свежие непосредственно изолированные клетки дольше 24—36 ч, то набухания после добавления NaCl больше не происходит. В сильно разбавленной соляной кислоте или растворе соды аморфное вещество между остатками клеток растворяется, и эти зернистые остатки оказываются свободно суспендированными в жидкой среде.

Я неоднократно тщетно пытался получить из NaCl-геля путем фильтрации раствор, который давал бы реакцию на миозин. Почти всегда отфильтровывалось небольшое количество жидкости, которая при внесении ее по каплям в воду не давала помутнения, в крайнем случае лишь едва уловимый его след, который всегда можно было приписать неполному вымыванию сыворотки. На фильтре оставались еще более вязкие слизистые комки. Так что речь шла лишь о набухании, а не об истинном растворе. Я пытался получить миозин или сходное с ним вещество и другим путем. С помощью сильно разбавленного раствора Na_2CO_3 (0,5—1‰) удается экстрагировать из мышцы весьма значительное количество миозина; осадив его путем точной нейтрализации уксусной кислотой, снова растворяют в NaCl и получают опалесцирующую жидкость. Длительно обрабатывая клетки гноя такой же слабощелочной жидкостью, я переводил значительное количество вещества в раствор; однако осадок, получавшийся путем нейтрализации, не растворялся и не набухал в растворах солей; 10%-ный раствор NaCl после взаимодействия с большим количеством этого осадка и последующего фильтрования не приобретал способности к помутнению в избытке воды.

Известно, что миозин очень легко растворяется в сильно разбавленной ($^1/_{1000}$) HCl и затем постепенно превращается в синтонин. При очень быстрой нейтрализации можно получить еще большее количество неизмененного миозина (Гоппе. Введение в физиолого-химический анализ) [3*]. Однако и таким путем я не достиг цели. Мне, конечно, не удалось справиться с довольно вяло фильтрующимися жидкостями за несколько минут, как это надо было сделать.

Так что после этого я так и не сумел получить из набухающего в NaCl так называемого гиалинового вещества (Ровида) клеток гноя неизмененный фильтрирующийся раствор. Я думаю поэтому, что такое вещество нельзя считать собственно миозином. Примечателен, однако, тот факт, что с по-

мощью сильно разбавленной соляной кислоты из клеток гноя можно быстро экстрагировать сравнительно большое количество белков; как раз для миозиноподобных тел, так называемых глобулинов по новой классификации Гоппе, характерна хорошая растворимость в этой разбавленной кислоте.

Остатки протоплазмы, плохо растворимые в $^1/_{1000}$ HCl, остающиеся неизменными в NaCl, состоят, судя по нерастворимости в кипящей воде, спирте и эфире и растворимости в пищеварительных соках, несомненно, также из белков. Сильно разбавленный (0,05—0,2%) раствор соды делает их бесцветными, вызывает набухание и придает им способность к медленному и неполному растворению. Как уже отмечалось, из этого раствора путем нейтрализации можно получить обильный хлопьевидный осадок, нерастворимый в NaCl. Часть этого осадка растворяется, правда с трудом, в избытке уксусной кислоты и в разбавленной HCl, что отличает его от обычного альбумината, с которым он во многом сходен. При всех этих условиях от осадка остается нерастворимый остаток. В целом мое мнение совпадает полностью с мнением Ровида, за исключением положения о том, что вещество, набухающее в NaCl, должно растворяться в воде. Ровида делает такой вывод на том основании, что при добавлении воды клетки разбухают и лопаются. Это явление, которое наблюдал еще Фёрстер, можно, однако, вполне удовлетворительно объяснить первичным возникновением малоэластичной мембраны и последующим эндосмотическим обменом между водой и содержащей соли протоплазмой; клетка набухает, и мембрана разрывается.

При этом немалое количество белков даже из хорошо отмытых клеток переходит в раствор. При определении, проводившемся с небольшой потерей нерастворимых частиц, при котором водный раствор не был абсолютно прозрачным, было получено:

Вымытый водой осадок, высушенный при 100°	0,5930 г
Коагулированный путем кипячения из водного раствора	0,0635 г
Всего:	0,6565 г

В водном растворе можно было различить лишь три белковых тела.

1. Щелочной альбуминат, частично осаждаемый угольной кислотой, лучше — с помощью уксусной кислоты, нерастворимый в NaCl, растворимый в $^1/_{1000}$ HCl. Из-за сильного разбавления раствора мне не удалось выяснить, растворим ли альбуминат в фосфорнокислых щелочах, что, по-моему, вполне вероятно.

2. Белковое вещество, коагулирующееся при 48—49°. Выпадающие хлопья нерастворимы в HCl $^1/_{1000}$, в NaCl и в сильно разбавленном растворе соды и, следовательно, не представляют собой растворимый лишь в фосфорнокислой соли альбуминат.

3. Белковое вещество, которое свертывается при температуре, обычной для сывороточных белков.

Прибавим сюда:

4. Белковое вещество, нерастворимое в воде, набухающее в NaCl и растворимое в HCl $^1/_{1000}$,— гиалиновое вещество Ровида.

5. Белковое вещество, не изменяющееся в воде и NaCl и плохо растворимое в HCl $^1/_{1000}$.

Таким образом, получим пять различных белковых тел. Известно, что, по Кюне, в мышцах также находится по крайней мере пять различных белковых веществ:

1. Щелочной альбуминат.
2. Белковое тело, свертывающееся при 49° (у млекопитающих).
3. Сывороточный белок.
4. Миозин, растворимый в NaCl и HCl (разбавленной).
5. Вещество мышечных призм.

Стоило бы заняться подробным исследованием этой аналогии, на что у меня нет времени. Полной идентичности, однако, не имеется. Я не могу, конечно, отрицать возможность присутствия небольших количеств других белковых веществ, быть может легче диффундирующих, экстрагируемых промывной жидкостью, но это могут быть лишь следы. Вызовет удивление отсутствие среди названных веществ так называемого параглобулина. Я не могу полностью исключить возможность присутствия небольших количеств подобного вещества, однако совершенно не знаю, как его выявить, так как с помощью угольной кислоты или очень небольшого количества указанной кислоты получал из нейтрального или слабо подщелоченного водных растворов лишь упомянутые выше нерастворимые в NaCl помутнения и осадки. Замаскированный ими параглобулин вряд ли мог присутствовать более чем в виде следов. Относительно миозина я уже высказывался. Мне удавалось исследовать всего лишь несколько капель сыворотки гноя, и потому я не мог более подробно изучить ее белки.

Если в сыворотке гноя действительно находятся истинный миозин, а также параглобулин или фибриноген в существенно больших количествах, чем в сыворотке крови и в транссудатах, то надо все-таки иметь веские основания, чтобы считать, что они происходят из клеток. Однако на основании имеющихся результатов я должен придерживаться того мнения, что перечисленные белковые вещества, если они обнаруживаются в больших количествах, могут быть только следствием изменения исходных компонентов клетки, быть может, в результате тех химических процессов, которыми сопровождается распад и в конечном счете растворение отживших клеток, не считаясь с другими многочисленными возможностями, определить которые не позволяют мне недостаток фактов.

2. СПИРТОВОЙ ЭКСТРАКТ

Если многократно в течение длительного времени обрабатывать клетки крепким спиртом при 50—60°, то значительное количество компонентов переходит в раствор. Если жидкость сливают не полностью, если применяют не очень крепкий спирт или если забывают добавить несколько капель уксусной кислоты, то в раствор легко переходит довольно большое количество белковоподобных веществ, которое при охлажде-

нии выпадает в осадок — убедительное свидетельство того, что при связывании белковых веществ определенную роль играют щелочи (или соли, дающие щелочную реакцию, например фосфорнокислый калий?). Если этого избегать, то можно получить почти бесцветный при обычной температуре раствор, из которого при охлаждении выпадают в большом количестве неопределенные кристаллические хлопья и маслянистые капли. Значительная, пожалуй, бо́льшая, часть веществ, остается в растворе. Если выпарить весь экстракт при повышенной температуре до сухого состояния, то получится полумаслянистая, полупрозрачная вязкая масса, которая на воздухе сильно притягивает воду. Эфир постепенно растворяет бо́льшую часть этой массы, оставляя более рыхлый хлопьевидный осадок. В двух опытах получены следующие количественные соотношения между экстрактом и осадком. На 100 частей высушенных гнойных телец (%):

Осадок, высушенный при 100°	Экстракт, высушенный в вакууме
I 59,2	I 40,8
II 60,2	II 39,8

Для обоих опытов был взят свежий обезжиренный гной. Подробное качественное исследование веществ спиртового экстракта мне пришлось отложить до лучших возможностей в смысле получения материала. Я поставил опыты, касающиеся только двух пунктов.

В старых и новых работах по фосфорсодержащему жиру[3], протагону (Фишер), глицеринофосфорной кислоте и т. д. давно было достоверно показано, что в клетках имеется лецитин или какое-то весьма сходное с ним вещество. Я сам получал значительное количество нейрина и глицеринофосфорной кислоты даже из небольших порций гноя. Чтобы получить хотя бы предварительное представление о количестве лецитина, я определил P в упомянутом выше алкогольном экстракте II.

1,799 г алкогольного экстракта дали 0,1070 г $Mg_2P_2O_7$, что составляет 3,804% P_2O_5. Если вычислить на основании формулы Дьяконова[4*] (например, для дистеаринлецитина) количество лецитина, то получится, что на долю лецитина приходится 44,28% спиртового экстракта, 17,6% всех высушенных клеток гноя. Эта величина несильно отличается от вычисленной для желтка куриного яйца по данным анализа Парке[4]. На основании содержания P в алкогольном и эфирном экстрактах Парке вычислил, что на протагон приходится 52% твердых компонентов желтка куриного яйца, что соответствует 20,7% лецитина.

Возникает важный вопрос, является ли содержание лецитина величиной, близкой к постоянной, или оно существенно меняется в зависимости от стадии развития клетки. Ответив на этот вопрос, можно решить, выполняет ли лецитин какую-то особую физиологическую функцию, являясь необходимым химическим компонентом живой клетки,

---

[3] См., например: *Boedecker.* Zeitschr. rat. Med. Neue Folge. VI. S. 191.
[4] Medicinisch-chemische Untersuchungen. II. S. 213.

или же он представляет собой лишь продукт вторичного, скорее регрессивного метаморфоза — промежуточный продукт, находящийся между тканевыми структурами и конечными продуктами тканевого распада. Решающими в этом отношении были бы опыты на лимфоцитах, бесцветных клетках крови и клетках гноя на разных стадиях дегенерации.

Кроме опытов для решения вопроса о лецитине, я поставил всего лишь еще один опыт с нерастворимой в эфире частью спиртового экстракта. Для удаления нерастворенного лецитина экстракт кипятили с баритовой водой, осадок обрабатывали теплым спиртом; при охлаждении из спиртового раствора выпадали белые хлопья, которые состояли из шаров и друз отчетливо игольчатых кристаллов. После повторной перекристаллизации из горячего спирта, промывания холодным спиртом и эфиром получали белую, мыльную на ощупь массу, которая слегка набухала в воде и еще содержала барит. Полученную массу кипятили в течение часа с разбавленной серной кислотой. Отдельные кусочки сплавлялись при этом в сероватые шары. Слитый с них раствор, упаренный после удаления серной кислоты, обладал сильными восстановительными свойствами в присутствии медного купороса и едкого натра, а также висмута. Это могло бы свидетельствовать о присутствии церебрина или какого-то аналогичного вещества, подобно тому как у Фишера [5] его данные о протагоне подтверждают нахождение растворимого в теплом спирте вещества, которое при кипячении с кислотами дает сахар. Впрочем, клетки гноя могут служить не более чем хранилищем протагона в том смысле, как это понимал Либрайх, так как количество фосфора в спиртовом экстракте, содержащем многие другие вещества, оказывается значительно выше, чем в чистом протагоне Либрайха.

3. ВОДНЫЙ ЭКСТРАКТ

Клетки, экстрагированные спиртом, многократно подвергали исследованию на глутин и хондрин или их исходные клеточные компоненты путем длительного или кратковременного кипячения с водой. Никогда при концентрировании жидкости мне не удавалось получить даже следы геля, ни разу — осаждения уксусной кислотой из нейтрального раствора. Осадок вообще был незначительным. Таниновое и свинцовое осаждение, однако, получалось; о значительных следах альбуминовых веществ свидетельствовало выпадение обильного осадка при действии ферроцианидом калия и уксусной кислотой. Профессор Гоппе-Зейлер выступил тогда против меня с мнением, что при осаждении солями металлов в массе малоизвестных веществ нельзя с точностью распознать разные виды клейких веществ; единственным надежным основанием могло бы быть образование геля. Я не хочу, однако, оспаривать (особенно принимая во внимание данные Бёдекера) [6], что при определенных обстоятельствах,

---

[5] Med. Centrallblatt, 1865. S. 225.
[6] Zeitschr. rat. Med. Neue Folge. VI. S. 196.

например в присутствии примеси пусть даже молекулярных обломков тканей, в гное могут быть обнаружены и упомянутые компоненты межклеточных веществ.

4. КОМПОНЕНТЫ ЗОЛЫ

До сих пор я провел всего один анализ, да и тот был поставлен с малым количеством вещества (по методам, приведенным в руководстве Гоппе-Зейлера). Поэтому я привожу здесь результаты как предварительные. При определении в золе щелочей и хлора для промывания применяли упомянутый выше полунасыщенный раствор азотнокислого барита. Щелочные земли и железо определяли после промывания глауберовой солью. Само собой разумеется, что обе соли подвергались проверке на чистоту. Определение серной кислоты после внесения поправки на определявшееся по-иному содержание органического P давало представление о количестве примеси глауберовой соли. В других случаях подобным же образом для внесения поправки служило определение барита. На 100 частей клеток гноя, высушенных при 110°, приходилось (%):

NaCl	0,1428	CaO	0,0830
Na_2O	0,2625	MgO	0,0870
K_2O	0,6546	Fe_2O_3	0,0390
			1,2689

Здесь уместно привести результаты определения фосфорной кислоты, которое я проводил после сжигания с содой (I) и селитрой (II) (%):

	Сухое вещество (с поправкой)	Пирофосфорнокислый магний	Фосфорная кислота
I	2,9430	0,1240	2,689
II	1,9127	0,0831	2,778

В опыте II при определении спиртового экстракта я раздельно определял фосфорную кислоту в экстракте и осадке: суммарный результат получился следующий:

III	4,6318	давали PO_3	2,800%

Отсюда после вычитания PO_3 экстракта на нерастворимый в спирте осадок приходилось 1,323% общего количества в высушенных клетках. Если считать, что фосфорная кислота со щелочными землями трехосновна, а со щелочными металлами двухосновна, то получим (пренебрегая возможными следами SO_3) связанной с основаниями фосфорной кислоты (после вычитания Na, связанного с хлором) 1,009%. Тогда получается непокрытый остаток 0,314% или, если принимать в расчет минимальное значение определения P, 0,203%.

Обращает на себя внимание постоянство результатов при трех определениях P. Позже мы еще вернемся к этим определениям. Хотя нельзя утверждать, что найденные компоненты золы представляют все количество солей, содержащихся в клетках гноя, тем не менее, как и в случае отмытых кровяных телец, эти данные заслуживают внимания. Нельзя

отбросить и тот факт, что клетки упорно удерживают сравнительно большое количество (1,86%) солей, отличающихся от находящихся в промывной жидкости. То же явление наблюдалось при отмывании кровяных телец. Сколь высоко следует оценивать влияние промывной жидкости, должен был бы показать комбинированный анализ цельного гноя, клеток и отфильтрованной сыворотки; возможность такого анализа мне не представлялась. В настоящее время анализ показал, что хлор, который очень легко отходит, в клетках все же остается. Присутствует также и натрий, и не в малом количестве, так что для его связывания хлора далеко не достаточно. При рассмотрении вопроса о превращении бесцветных кровяных телец в окрашенные представляется удивительным малое содержание железа, хотя в остальном отмечается в известной степени приблизительное соответствие кровяным тельцам. Если, впрочем, принять в расчет значительно больший объем гнойных клеток по сравнению с окрашенными кровяными тельцами, то можно будет, пожалуй, признать, что содержание железа окажется достаточным и в расчете на железо кровяного пигмента.

Таким образом, рассчитанный при упомянутых выше допущениях состав золы можно представить следующим образом на 100 частей сухого веса гнойных клеток:

Фосфорнокислые щелочноземельные металлы и железо	0,4160
Фосфорнокислый натрий	0,6063
Фосфорнокислый калий	1,2010
NaCl	0,1428
	2,3661

Вообще говоря, это несколько более низкие величины, чем для золы других тканей.

5. ЯДРА И НУКЛЕИН [5*]

Материал, которым мы располагали, состоял из чистых клеток и позволял наконец-то всерьез заняться вопросом о химическом составе клеточного ядра. Выше я упоминал, что путем экстракции сильно разбавленным раствором соды из клеток среди прочих получали вещество в растворе, которое осаждалось кислотами; оно не растворялось ни в избытке кислоты, ни в солях, однако снова переходило в раствор в присутствии хотя бы следов едкой или углекислой щелочи. Исходя из известных гистохимических данных, я должен был приписать это вещество прежде всего ядрам. Мне не удалось, однако, путем обработки разбавленными кислотами удовлетворительно отделить это вещество от примеси белка. Оставалось помутнение, которое не отфильтровывалось. Поэтому была предпринята попытка изолировать ядра.

Для этой цели я сначала обратился к совершенно разбавленной соляной кислоте, о которой известно, что она при длительном воздействии полностью растворяет протоплазму, оставляя «голые» ядра. Однако, как уже было отмечено при описании белков, результат оказался неудовлетворительным. После многодневной обработки некоторое количество

ядер удавалось изолировать, иногда даже довольно много; однако с большинством ядер даже после 6—10-кратного отмывания оказались прочно связанными остатки протоплазмы, причем в кислоту переходили лишь следы белка. При этом осаждение нерастворенных остатков было неполным; фильтрование требовало большой затраты времени. С уксусной кислотой результаты были еще хуже.

Воспользовавшись механическим способом, я получил небольшие порции ядер из клеток, которые обрабатывал по нескольку недель (в условиях зимних холодов) разбавленной соляной кислотой. Нерастворенный остаток подвергался длительному и сильному встряхиванию с эфиром и водой; масса клеток, сохранивших остатки протоплазмы, собиралась на границе между двумя жидкостями, однако на дне водного слоя через некоторое время можно было видеть осадок тонкого порошка. Его можно было собрать на фильтр; он состоял из совершенно очищенных ядер, которые имели ровные контуры, гомогенное содержимое, четко очерченное ядрышко; по сравнению с исходным объемом они представлялись несколько уменьшенными. Путем встряхивания с новыми порциями воды из клеток удавалось получать новые, но всегда очень малые количества ядер. В основе такого выделения лежит, по-видимому, более высокий удельный вес ядра по сравнению с протоплазмой.

Полученные таким образом ядра оставались в чистой воде совершенно неизмененными, однако в сильно разбавленной щелочной жидкости они набухали и становились бесцветными, бесцветным и невидимым становилось и ядрышко. Добавление кислоты приводило к восстановлению исходных соотношений. Ядра несколько набухали также и в растворе NaCl. Йод окрашивает их в интенсивно желтый цвет. Упомянутые выше разбавленные растворы соды извлекали из ядер желтоватый раствор вещества, которое под действием уксусной кислоты или HCl давало нерастворимый в избытке этих кислот осадок, который в чистой воде вообще не набухал, однако растворялся в ничтожнейших следах едкой или углекислой щелочи, точно так же, как и в обычном фосфорнокислом натрии, превращаясь в остающуюся прозрачной при кипячении жидкость; ни в NaCl и ни в других средних солях растворения не происходило. Если ядра тщательно отмывались, то этот осадок давал с азотной кислотой ксантопротеиновую реакцию, а с натрием и медным купоросом голубой раствор с фиолетовым оттенком. Он растворяется в дымящей соляной кислоте; осадок, выпадающий при разбавлении, в избытке воды снова не растворяется. Таким образом, данное вещество представляется близкородственным истинным белкам, но не принадлежит к ним; эти реакции, если не считать полного отсутствия набухания или растворимости в нейтральной среде, соответствуют в какой-то мере присущим муцину Эйхвальда [6*].

На фильтре остается вещество, нерастворимое даже в концентрированном растворе соды; после высушивания спиртом и эфиром оно отделяется от фильтра в виде пленки, напоминающей коллодиевую, в которой под микроскопом различимы контуры ядер и их ядрышек. Эта пленка растворялась, правда, не моментально, в концентрированной соляной

кислоте и в крепких щелочах, однако при длительном (часами) нагревании с ледяной уксусной кислотой при 140° в запаянной стеклянной трубке совершенно не изменялась (в противоположность кератиновым веществам). По характеру растворимости можно было заподозрить сходство с эластическим веществом мышц. Тех минимальных количеств ядер, которые удавалось получить описанным путем, едва хватало на небольшое число упомянутых здесь реакций; об элементном анализе нечего было и помышлять.

Я обратился поэтому к средству, энергичная способность которого растворять белки уже нашла себе применение в химии белков[7],— к пепсинсодержащим жидкостям. Были приготовлены отфильтрованные до прозрачности экстракты желудка свиньи, пользуясь для этого раствором соляной кислоты (10 см^3 дымящей соляной кислоты на 1 л воды). Прямая обработка свежих отмытых клеток гноя этой жидкостью при 40° не дала удовлетворительного результата. Главная масса растворилась, но освободилось некоторое количество масляных капель, отчасти в результате распада лецитина; эти капли поддерживали нерастворившийся остаток в виде суспензии, которая оставалась мутной после фильтрования. Тогда я произвел предварительно многократное, обычно 3—4-кратное, промывание теплым спиртом, а затем подверг почти полностью освобожденный от лецитина остаток перевариванию при 37 и 45°. Уже через несколько часов из прозрачной желтоватой жидкости выпал тонкий сероватый порошок осадка. Чтобы убедиться в полноте воздействия, я продолжил переваривание до 18—24 ч и на протяжении этого времени дважды сливал и менял жидкость. После второй экстракции осадок не изменялся ни количественно, ни микроскопически. Он состоял исключительно из изолированных ядер без каких бы то ни было следов протоплазмы. Иногда отмечалась примесь единичных мелких интенсивно преломляющих свет зернышек, которые, однако, при промывании в большинстве своем проходили через фильтр. Если экстракция спиртом была неполной, то заметны были отдельные масляные капельки. Осадок снова многократно встряхивали с эфиром для удаления этих остатков жира. После того как сливали последнюю порцию эфира, ядра легко было собрать на фильтре; они представляли собой серую плотную массу; сколько бы потом их не промывали водой, они больше не изменялись. Промывание производили до тех пор, пока фильтрат не переставал мутнеть при добавлении танина.

Таким образом, это был надежный метод получения ядер клеток лейкоцитов в любых количествах. Полученные таким методом ядра были совершенно лишены протоплазмы («голые»), но по крайней мере в большинстве своем оказались не столь гладкими, как при выделении с помощью одной лишь соляной кислоты. Хотя по объему они существенно не отличались от последних, выглядели они несколько сморщенными, неодинаково преломляли свет, у некоторых мембрана была неравномерно утолщена, а иногда они представляли картину зернистого помутнения то ли из-за изменения содержимого, то ли за счет сморщенной и шерохова-

[7] *Kühne* und *Rudnew*. Zur Chemie der amyloiden Gewebsentartung.— Virch. Arch., XXXIII. S. 66.

той поверхности. Контуры у некоторых ядер были гладкими, а у некоторых как бы слегка изъеденными. Если помутнение было менее выражено, то ядрышко выступало более отчетливо. Полученную таким образом промытую массу еще несколько раз обрабатывали теплым спиртом. При первых экстракциях в спирт переходило небольшое количество остававшегося после выпаривания маслянистого слегка коричневатого вещества, которое медленно растворялось в эфире, оставляя небольшое количество рыхлого осадка. По этим свойствам вещество было ближе всего к лецитину; к сожалению, я упустил возможность исследовать содержание в нем фосфора. При третьей экстракции уже не было никаких сколько-нибудь заметных следов упомянутого вещества.

Если не считать микроскопических особенностей, очищенный таким образом препарат ядер вел себя так же, как и ядра, выделенные путем обработки разбавленной соляной кислотой. При обработке разбавленным раствором соды они давали желтоватую жидкость, из которой под действием уксусной или соляной кислоты выпадал осадок, нерастворимый в избытке кислоты. Кислый фильтрат не давал помутнения ни при нейтрализации, ни под действием кровяной соли. Бо́льшая часть вещества оставалась нерастворимой, но растворялась, правда, медленно, в едких щелочах. О том, что причиной нерастворимости был не спирт и не кипячение, свидетельствовало совершенно идентичное поведение ядер, выделенных с помощью соляной кислоты. Изменение микроскопического вида скорее могло быть обусловлено веществом, которое удаляли экстракцией спиртом; таким веществом, я думаю, мог быть лецитин. Разные ядра давали неодинаковое помутнение, так что количество экстрагируемого вещества могло варьировать, возможно, в зависимости от стадии развития ядер.

Вещества, растворимые в растворе соды, давали муциноподобные реакции, о которых я упоминал выше при рассмотрении выделения ядер с помощью соляной кислоты, к которому я сейчас и отсылаю читателя. Мне, однако, никогда не удавалось получить эти вещества в большом количестве; набухший осадок забивал фильтр, а если процедура продолжалась долго, вещество в растворе изменялось; происходило образование продуктов, осаждавшихся танином, а не уксусной кислотой. Полученное небольшое количество я использовал для определения азота. Поэтому позже я проводил свои опыты на цельных ядрах, отложив до получения более подходящего материала попытки разделения веществ, которые я пока без лишних обсуждений буду называть растворимым или нерастворимым нуклеином [7*].

Очищенные ядра хотя и не моментально, но полностью растворимы в концентрированной соляной кислоте. При кратковременном воздействии последующее разбавление водой ведет к выпадению почти всего вещества в виде хлопьев, нерастворимых в избытке воды; тем не менее при добавлении к фильтрату ферроцианида калия, а также при нейтрализации из него выпадает некоторое количество хлопьев, а фильтрат, полученный после их отделения, слегка мутнеет при добавлении танина. При более длительном воздействии количество этих продуктов увеличивается, и в конце концов при разбавлении, а также при добавлении кровяной

соли осадок вовсе не образуется (в крайнем случае при добавлении танина). Такой раствор имеет пурпурно-красный цвет.

Аналогичное действие оказывают едкие щелочи, которые полностью растворяют ядра. Вначале при закислении избытком HCl или уксусной кислоты почти все вещество выпадает в осадок, однако этот осадок легко растворяется даже в разбавленном растворе соды. Из этого я делаю вывод, что растворимый и нерастворимый нуклеины существенно не различаются, а представляют собой лишь модификации, которые легко переходят друг в друга; конечно, это утверждение требует дальнейшей проверки. И в этом случае кислый фильтрат при нейтрализации и при добавлении кровяной соли мутнеет. Однако, когда я однажды в течение нескольких дней воздействовал на раствор сильно разбавленной NaOH, из нейтрализованного раствора выпал обильный осадок, полностью растворимый в разведенной ($^1/_{1000}$) HCl и в разбавленной уксусной кислоте; однако и нейтральный фильтрат, полученный после отделения этого осадка, сильно мутнел при добавлении танина. Это послужило для меня подтверждением того, что упомянутая выше альбуминатоподобная реакция при кратковременном воздействии не может быть так прямо отнесена за счет белковых примесей. Более вероятной представляется возможность образования альбуминато- или синтониноподобных веществ, в качестве промежуточных этапов превращения нуклеиновых веществ, и лишь в последнюю очередь образуются продукты, которые обычно из-за негативности большинства реакций «сваливают в общую кучу» пептоноподобных [8*]. В каждом отдельном случае я не мог точно установить, какой этап превращения был получен; при, казалось бы, сходных условиях иногда получались различные результаты. Само собой разумеется, что лишь элементный анализ и точное исследование полученных продуктов могут дать однозначное объяснение. Кипящая ледяная уксусная кислота не растворяла нуклеин — ни растворимый, ни нерастворимый, но вызывала сугубо постепенное превращение сходного типа. Проб с солями металлов я не делал, так как располагал лишь щелочными растворами нуклеина. Однако, насколько позволял мне весьма скудный материал, я попытался установить известные особенности элементного состава. Я предпочел предварительно повторить исследования отдельных особенно важных компонентов, что скорее позволяет понять, имеем ли мы дело с индивидуальными химическими веществами или со смесями, нежели один-единственный полный элементный анализ [9*]. Как только у меня будет возможность, я дополню свои данные. Полученное вещество содержало азот, серу и было очень богато фосфором. Классическая идея о фосфорсодержащем белке получила реальное подтверждение [10*].

I. 0,1915 г растворимого нуклеина давали 0,1811 Pt=13,47 N.

Ядра после выделения не экстрагировали спиртом. В приводимых ниже исследованиях использовались целые ядра, предварительно обработанные горячим спиртом.

II. 0,2278 г давали 0,2378 г Pt=14,60% N. По недосмотру некоторое количество хлорида платины разложилось при выпаривании.

III. 0,2545 г давали 0,2518 г Pt=13,99% N.

IV. 0,1862 г давали 0,1810 г Pt=13,97% N.

V. 0,3882 г давали при сжигании с ацетатом калия и селитрой 0,0494 г $BaSO_4$=2,005% S.

VI. 0,4611 г давали $BaSO_4$ 0,0598 г=1,78% S.

VII. 0,2453 г давали $BaSO_4$ 0,0318 г=1,77% S.

VIII. 0,3882 г давали $Mg_2P_2O_7$ 0,0350 г=5,76% P_2O_5.

XI. 0,4611 г давали $Mg_2P_2O_7$ 0,0430 г=5,96% P_2O_5.

Анализы V и VIII, а также VI и IX проводили на одних и тех же пробах вещества. Азот определяли по Виллю иВаррентраппу, а пробы V (и соответственно VIII) сжигали с содой и селитрой.

Я полагаю, что на основании результатов приведенных анализов, как бы неполны они ни были, можно сделать вывод, что мы имеем дело не с какой-то произвольной смесью, а с химически индивидуальным веществом или по крайней мере с группой близкородственных веществ, если не считать небольшого количества примесей. Об этом свидетельствует также близкое соответствие содержания азота в растворимом нуклеине и целых ядрах, за исключением одного весьма незначительного отклонения при получении, которое должно было привести к снижению в содержании азота. На основании чисто количественного исследования можно было думать о соединении лецитина с белком или производным белка примерно так, как мы себе представляем вителлин или хитин. Однако наличие 5,8% P_2O_5 и 14% азота в одном веществе заставляет сразу же отказаться от такого допущения. Перед нами скорее особое вещество, не сравнимое ни с одной из ныне известных групп. Возможное и, пожалуй, оправданное сомнение в полной чистоте моих препаратов ничего в этом утверждении не меняет. В том, что фосфор действительно связан с органическим веществом, я убедился на основании двух анализов, которые были проведены один с 0,28, а другой с 0,38 г сухого вещества. Вещество нагревали в фарфоровой чашечке, при этом появлялись сильно щелочные пары и оставался вспученный пористый шлаковый, несгорающий уголь. Сразу же по прекращении выделения паров и прежде, чем начинал раскаляться уголь, нагревание прекращали, уголь измельчали в тонкий порошок и кипятили с водой. В первом случае водный экстракт угля давал нейтральную реакцию, оставляя после выпаривания очень небольшой след осадка, который, однако, при переносе в воду давал едва уловимую реакцию на фосфорную кислоту. После более полного сжигания угля оставалось несколько зернышек неорганического вещества, которые при переносе в соляную кислоту и перенасыщении аммиаком давали несколько хлопьев, напоминавших по виду окись железа, которые я счел случайными примесями. В солянокислом растворе фосфорная кислота не определялась. Во втором опыте водный экстракт угля давал кислую реакцию и оставлял в качестве осадка скудный прозрачный налет.

Отмытый сожженный уголь не оставлял никакого осадка; солянокислая промывная жидкость платиновой чашки не давала реакции на фосфорную кислоту. Определение фосфорной кислоты в водном экстракте угля дало всего 1,7% сухого вещества. Так что и в данном случае бо́льшая часть фосфора улетучивалась. Доведение фосфора до компонентов золы

не удавалось. При предложенной методике нельзя было и думать о восстановлении фосфорной кислоты углем. Фосфор должен был связываться каким-то иным способом, чем в лецитине (в неокисленном состоянии?). Отклонения в обоих опытах могли быть вызваны производимым по-разному быстрым нагреванием.

На основании опытов с другими тканями, о которых я вскоре сообщу, мне теперь представляется вероятным, что мы открыли целое семейство несколько отличающихся друг от друга фосфорсодержащих веществ, которые, пожалуй, как группа нуклеиновых веществ заслуживает быть поставленной наравне с белками[11*].

Я не могу отказаться от мысли, что здесь раскрывается важнейшая физиологическая роль фосфора в организме. При этом я, в частности, имею в виду известный примечательный факт: в растениях фосфор всегда преимущественно или почти исключительно накапливается на границе роста; не ограничивается ли появление ядер здесь в какой-то мере областью роста — клетками, находящимися в состоянии деления[12*]. Наше внимание привлекла прежде всего связь ядерного вещества с лецитином; первой должна прийти в голову мысль о том, что нуклеин, стоящий ближе к белку, может быть предшественником (материнским веществом?) лецитина. Здесь можно представить себе, в частности, две возможности. Либо весь лецитин образуется из нуклеина; в этом случае должно произойти отщепление группы атомов, очень богатой азотом. Либо более простая фосфорсодержащая группа атомов соединяется с продуктами превращения белка протоплазмы; при этом могут образовываться альбуминовые тела или альбуминоидные компоненты тканей. Но зачем обсуждать возможности? Это вопросы, которые доступны прямому изучению при подходе с разных сторон. Исследование клеток на различных стадиях развития позволяет получить довольно надежные основания в пользу генетической связи между этими двумя веществами. Постоянное общее содержание фосфора в гное указывает на целесообразность подобных исследований. Количественное определение ядерного вещества должно довольно хорошо удасться, хотя, судя по приведенному методу, следы их растворимы в спирте (осаждаются водой).

Я хочу привести только один опыт. Вспомним об описанном выше определении фосфора в спиртовом экстракте. Спиртовой осадок, не будучи еще полностью высушен на воздухе, был разделен на две взвешенные порции, из которых одна использовалась для определения фосфора и одновременно после уменьшения ее веса при 100° — для вычисления общего количества сухого вещества. Другую порцию в невысушенном состоянии подвергали перевариванию. На 100 частей сухого (при вычислении с поправкой на серу) нерастворимого в спирте осадка приходилось 6,057% неперевариваемого вещества, что при пересчете на общее количество сухих клеток гноя равнялось 3,646%. Если теперь пересчитать на это количество ядерного вещества найденное в нуклеине содержание P_2O_5, то будет получено такое количество фосфорной кислоты, которое достаточно для того, чтобы покрыть не связанную лецитином и основаниями золы фосфорную кислоту.

P_2O_5 ядер составляет 0,233%, непокрытыми основаниями золы + лецитин остаются 0,314 или 0,203% в зависимости от того, берут ли максимальное или минимальное из трех найденных значений общего P_2O_5. Этот опыт в какой-то степени контролирует правильность анализов.

К этому я пришел на основании представленного материала. Совершенно ясно, что, кроме элементного анализа, недостает ряда простых напрашивающихся опытов, от которых можно ожидать определенных результатов, касающихся связи нуклеинов с известными химическими группами. Я сам, как только у меня появится возможность, сделаю дальнейшие сообщения. Однако я полагаю, что и эти полученные, хотя и фрагментарные, результаты достаточно важны, чтобы стимулировать других исследователей, в частности химиков по специальности. Выявление связей между ядерными веществами, белками и ближайшими продуктами их превращений позволит постепенно приподнять покров, которым полностью скрыты от нас интимные процессы клеточного роста [13*].

Доложенное исследование, за исключением нескольких заключительных опытов, выполнено в лаборатории профессора Гоппе-Зейлера в Тюбингене. Ему обязан я практическим приобщением к области физиологической химии; всегда буду с благодарностью вспоминать его разнообразные указания, квалифицированные советы и постоянную дружескую поддержку.

Базель, октябрь 1869 г.

ЯДЕРНЫЕ СТРУКТУРЫ В ЖЕЛТКЕ КУРИНОГО ЯЙЦА [1*]

Вопрос о значении структурных компонентов яйца многократно обсуждался в последние годы. Структуры, входящие в состав куриного желтка, снова привлекли к себе внимание гистологов и эмбриологов в особенности после того, как этим структурам стали приписывать более важную роль в развитии тела зародыша, нежели та, которая соответствовала представлению о простом питательном желтке.

Как известно, в желтке куриного яйца различают структуры двоякого рода: желтые элементы желтка — крупные окрашенные, богатые жиром и заполненные молекулярными зернышками шары, которые занимают почти все внутреннее пространство желтка, и белые желточные шары, последние беднее жиром, меньше по размерам, и образуют тонкий слой под желточной оболочкой, они особенно многочисленны вблизи зародышевого диска, где образуют цилиндрический отросток, направленный от диска к центру желтка. Именно с белыми шарами связано наибольшее число спорных вопросов. Согласно представлениям Гиса, эти шары, если они в процессе созревания яйца не превратились в желтые, являются истинными клетками соединительнотканного происхождения, представляющими гистологический материал для построения соединительнотканного скелета эмбриона. По величине и внешнему виду белые желточные

шары весьма разнообразны; все они имеют отчетливые мембраны и гомогенное жидкое содержимое. В них содержатся те своеобразные шаровидные плотные, сильно преломляющие свет тельца, которые уже давно привлекли к себе внимание исследователей; они бывают единичными, и тогда довольно значительных размеров, или встречаются в большем числе, и тогда бывают самых разнообразных размеров вплоть до молекулярных. Впрочем, небольшая часть белых желточных пузырей лишена каких бы то ни было внутренних структур. Более детальное описание читатель найдет в ранее опубликованных работах[1].

В связи с важным значением белых желточных шаров до сих пор обсуждается вопрос об их клеточной природе. В них отсутствуют сократительные структуры протоплазмы, нет явления движения; как отмечали Гис и до него Клебс, среди составных элементов их содержимого невозможно было выделить истинные клеточные ядра. Размер телец, их оптические свойства были слишком необычны; распад более крупных ядер на многочисленные частицы, на основании чего Гис сделал вывод о появлении многоядерных форм, в этом случае не наблюдался. Правда, тогда было трудно сказать, чем могут быть эти шары и зерна; мысль о том, что это капельки жира, была исключена из-за их нерастворимости в эфире и спирте; гистохимические реакции свидетельствовали в пользу вещества белковой или родственной белку природы; от гомогенного содержимого белковых шаров образования можно было отличить по их нерастворимости в растворах соли.

Для разрешения вопросов естественно было использовать результаты опытов с клетками гноя.

Известно, что обработанный эфиром желток в 10%-ном растворе поваренной соли или нашатыря превращается в мутную жидкость. Помутнение вызывается исключительно внутренними тельцами желточных элементов, освобождающимися после растворения оболочек. Более объемистую часть нерастворившейся массы образуют обсуждавшиеся выше крупные блестящие шары; более мелкие шары и наряду с ними мелкие и мельчайшие зерна заполняют все поле зрения. Нерастворенной также остается оболочка желтка. Отфильтрованная от этих зерен жидкость была исследована Гоппе-Зейлером[2]. Хлопья, выпадающие из нее при добавлении воды (вителлин), легко растворяются в сильно разбавленной соляной кислоте, не действующей на зерна; лецитин экстрагируется теплым спиртом и остается истинный коагулированный альбумин.

Простейшим способом выделения зерен и шаров было бы фильтрование солевого или солянокислого раствора. Это, однако, мне не удалось, так как фильтры очень быстро забивались. В соответствии с упомянутыми выше реакциями, после того как действием теплого спирта я освободил обезжиренный желток от лецитина и затем обработал переваривающей

---

[1] *Meckel von Hemsbach*. Zeitschr. f. wiss. Zool., III, 426; *Klebs*. Virch. Arch., XXVIII, 327; *Leuckart*. Wagner's Handwb., IV, 790; *His*. Entwicklung des Hübnchens, S. 4; *Dursy, Stricker und Virchow*. Bericht über die 43. Versammlung deutscher Naturforscher in Innsbruck, S. 205.

[2] Hoppe, Medicinisch-chemische Untersuchungen, II, 215.

жидкостью, которая легко растворяет альбуминовые вещества, возможный коагулированный остаток мог состоять, кроме оболочки желтка, из тех структур, о которых идет речь. Поэтому я, насколько это возможно, отделил желток от оболочки, обработал эфиром и четырежды — каждый раз при многочасовом переваривании — экстрагировал кипящим спиртом. Для удаления спирта остаток был прокипячен с водой и затем, как и при обработке гноя, подвергнут перевариванию. Нерастворившийся остаток, не изменявшийся при дальнейшем воздействии пепсином, представлял собой порошкообразный белый осадок, жидкость над которым оставалась почти полностью прозрачной. Этот осадок я промыл водой до исчезновения помутнения при добавлении танина к фильтрату, затем еще раз экстрагировал эфиром и теплым спиртом для удаления возможных следов лецитина или продуктов его распада, образовавшихся при переваривании.

Обработанная таким образом масса состояла по большей части из зернистых комков, сильно преломляющих свет, и, во всяком случае, нисколько не походила на аморфные осадки белков, кроме того, можно было заметить и отдельные изолированные зерна. Чтобы отчетливо установить, что комки представляют собой конгломераты, я перед экстракцией спиртом обработал желток раствором соли, затем провел коагуляцию кипячением и интенсивно взболтал коагулят с водой. Таким образом мне удалось получить значительно более тонко измельченную массу, и стало очевидным, что она состоит из четко оформленных структур различного размера. Многочисленные зерна были изолированы, и в тех случаях, когда, несмотря на малые размеры, их удавалось рассмотреть, можно было видеть, что они имели круглую или овальную форму, выглядели гомогенными с гладким, но не двойным контуром, многие были, однако, также угловатыми, как бы разорванными и мутными, как это наблюдалось и для некоторых ядер, полученных после аналогичной обработки препаратов гноя. Поэтому я не сомневаюсь, что здесь идет речь о мелких и мельчайших зернах, которые находились в солевом растворе обезжиренного желтка.

Помимо этих зерен, можно видеть также значительные количества более крупных структур, частично в виде вкраплений в конгломераты зернышек, частично в свободном виде. Среди них были многочисленные шары, а также овальные тельца различного размера — от размера кровяных телец до удвоенного диаметра клеток гноя и бóльших, причем были представлены все переходы вплоть до упомянутых мельчайших зернышек. Многие были с гладкими контурами, гомогенного, немного мутного вида; другие, однако, настолько сильно преломляли свет, что лишь повторная тщательная экстракция эфиром заставила отказаться от предположения, что это капельки жира. На этих блестящих шарах были видны многочисленные трещины, что говорит в пользу их плотной структуры. Наличие трещин отнюдь не вызывало разрыва шаров, напротив, они полностью сохраняли свою округлую форму. Помимо описанных, встречались также тельца другого типа — круглые или овальные, приблизительно того же размера, но мутные, в виде зерен с изрезанными контурами; и наконец, частицы еще иного типа, также мутноватые, имели угловатые «рубленные» формы. Относительные количества частиц различ-

ного типа сильно варьировали: в некоторых случаях, например, преобладали мутные тельца, а блестящих встречалось лишь немного; иногда, однако, наблюдалось обратное соотношение. Зернистые массы, так же как и шары, были совершенно бесцветны. Мне ни разу не пришлось наблюдать что-либо, напоминающее ядерные тельца.

Описанные здесь тельца, очевидно, не могут быть ничем иным, как уже известными тельцами, содержащимися в элементах желтка. Что касается гладких и блестящих частиц, то тут не требуется особых доказательств: наблюдаемая под микроскопом картина не оставляет никаких сомнений. Профессор Гис, которому я показывал препараты, также узнал в этих частицах описанные им желточные ядра. Но и более сморщенным мутным тельцам после того, что сказано выше, не может быть приписано какое-либо иное значение. Эти частицы не оставались неизмененными, в чем легко убедиться при сравнении со свежим желтком. В соответствии с тем что будет сказано ниже относительно химической природы, причиной этих изменений не может быть коагуляция, скорее всего происходит экстракция веществ применявшимися жидкостями, главным образом спиртом. Экстракция по-разному действует па различные шары: некоторые остаются почти неизмененными, другие меняются до неузнаваемости. Не все тельца, следовательно, имеют одинаковый количественный состав: одни содержат больше, другие — меньше экстрагируемого вещества. Так называемые ядерные тельца Гиса, как и описанный Дарси желтый пигмент, также, по-видимому, относятся к растворимым веществам. Все описанные структуры дают с йодом желтое окрашивание, особенно интенсивное у более крупных блестящих телец.

Полученную массу, исследование которой под микроскопом было только что описано, можно промыть водой, сильно разбавленными соляной или уксусной кислотами; при этом не происходит набухания. Однопроцентный раствор углекислого натрия, практически ничего не извлекавший из коагулированного белка куриного яйца, сразу же растворил всю эту массу с образованием желтоватой, более или менее сильно опалесцирующей жидкости, не содержащей никаких структурных элементов, кроме немногочисленных, рассеянных капелек жира. Эта жидкость поначалу хорошо фильтровалась, однако через некоторое время забивала фильтр. Многократным фильтрованием наконец удалось получить совершенно прозрачный желтоватый раствор. Не исключено, что и в нем оставались нерастворенные кусочки оболочки желтка.

При действии на этот раствор уксусной или очень разбавленной соляной кислоты, так же как и в случае раствора гнойных ядер, выпадал хлопьевидный аморфный осадок, нерастворимый в избытке кислот. После тщательного промывания этот осадок давал ксантопротеиновую реакцию с азотной кислотой; при кипячении с едким кали и медным купоросом получался фиолетовый раствор, который давал с реактивом Миллона розовое окрашивание. Осадок не растворялся даже при кипячении в ледяной уксусной кислоте, но растворялся в дымящей соляной кислоте, а при разведении из-за малой растворимости в воде выпадал вновь. Более длительное воздействие дымящей соляной кислоты или каустических щело-

чей вызывало такие же превращения, как и с ядрами клеток лейкоцитов; даже в упомянутом выше разбавленном растворе после 24-часового стояния происходили такие изменения значительной части вещества, что при подкислении осадок не выпадал, а осаждался из нейтрального раствора танином.

С целью проведения элементного анализа вещество многократно экстрагировали эфиром, а затем теплым спиртом; при этом небольшое количество растворялось в спирте с образованием желтоватого раствора, не осаждавшегося эфиром или уксусной кислотой, но легко осаждавшегося водой; даже в эфире растворялись заметные количества, что весьма мало характерно для веществ, родственных альбуминатам. Высушенное вещество было богато фосфором.

I. 0,3583 г промытых и высушенных желточных ядер, осажденных уксусной кислотой из содового раствора, дали 0,0860 г $Mg_2P_2O_7$=15,35% фосфорной кислоты.

II. 0,2985 г промытых желточных ядер, полученных непосредственно перевариванием, дали 0,0215 г $BaSO_4$=0,99% S и 0,0758 г пирофосфорнокислого магния = 16,23% фосфорной кислоты.

III. 0,2961 г желточных ядер из того же препарата дали 0,2816 г платины = 13,46% N. Первый продукт был, по-видимому, не вполне свободен от белковых веществ.

При осторожном нагревании вещества до полного исчезновения аммиачных паров оставался объемистый плохо сгорающий уголь, который давал кисло реагирующий водный экстракт. Уголь тонко измельчали, тщательно промывали горячей водой и затем сжигали. Кроме фосфорной кислоты, на которую приходилось 5,03% вещества, и следов кремниевой кислоты, никаких других составных частей золы выявлено не было. Найденное количество фосфорной кислоты составляет менее трети содержащейся в веществе, остальная улетучилась. Во всяком случае, и здесь нам приходится иметь дело со своеобразным видом фосфорного соединения.

Перед нами фосфорсодержащее альбуминоидное вещество. Тело, имеющее такой состав и такие свойства, можно сравнить лишь с нуклеином, который стал нам известен при изучении гноя. Обнаруженные отклонения — меньшее содержание серы и более высокое содержание фосфора — ничего не меняют в смысле обособленности его от всех остальных групп. Это просто одна из групп нуклеинов, которая, несомненно, еще будет пополняться другими членами [2*].

Никто не станет более оспаривать тот факт, что описанные выше нерастворимые в солевых растворах и переваривающих жидкостях структурные элементы желтка, несмотря на свой необычный вид, имеют значение истинных ядер; ведь не в оптических свойствах, а в химической природе структуры коренится ее роль в молекулярных процессах, из которых складывается жизнь клетки [3*].

Может быть, однако, имеются какие-либо иные основания отрицать клеточную природу элементов желтка?

Как мне кажется, по крайней мере с химической точки зрения, таких

оснований определенно нет. Основное белковое вещество желтка, вителлин, судя по его отношению к растворам солей, воде и разбавленным кислотам, принадлежит к группе глобулинов (Гоппе-Зейлер), которые в большем количестве встречались до сих пор лишь как составная часть клеточных тканей, таких, как мышечная ткань, вещество хрусталика, клетки гноя и т. д. Содержание составных частей золы и лецитина, по крайней мере, не противоречит клёточной природе желточных элементов. Короче говоря, данные о химическом составе выступают как окончательный аргумент против представления о желточной массе как о продукте секреции или результате полного разложения исходных клеток. И если по внешнему виду желточные элементы еще сильно отличаются от нормальных, способных к развитию клеток, то дальнейшие наблюдения позволят решить, происходит ли вообще и если происходит, то путем каких превращений, возврат к этой норме. *Во всяком случае, химический материал для такого превращения налицо.*

Интересный вывод мы сделали также на основании количественных данных. Из желтка одного куриного яйца я всегда выделял от 0,2 до 0,3 г сухого нуклеина. Три желтка дали, например, 0,733 г высушенного при 100° сухого вещества, при этом не удалось полностью избежать потерь. Один желток весит приблизительно 15—20 г. Выясняется, таким образом, следующее: из 15% белковых веществ, содержащихся согласно анализу в желтке (Парке, Гоппе) [4*], по крайней мере 1—1,5% составляет нуклеин и отношение ядерной массы к белку протоплазмы еще больше, чем для клеток гноя. Так как белые элементы желтка составляют лишь малую часть массы желтка, то из этих данных с необходимостью вытекает, что желтые желточные шары не являются безъядерными структурами. В них можно найти массы мелких и мельчайших зернышек нуклеина, которые значительно преобладают над более крупными и легко заметными под микроскопом шарами. Четкие, гладкие контуры, округлая форма этих зерен, особенно хорошо выраженные в солевых растворах желтка, свидетельствуют в пользу того, что нуклеин в желточных шарах находится не в растворенном состоянии, а в форме морфологических структур, мелких и мельчайших ядер. В связи с более поздними исследованиями источников возникновения нуклеина в теле животных, безусловно, следует отметить, что питательный желток содержит значительное количество предсуществующего ядерного материала.

Указанное толкование желточных зерен позволило выявить гистологический феномен, насколько мне известно, еще ни разу не обсуждавшийся исследователями, а именно существование ядер в форме многочисленных мелких зерен, которые, согласно Гису, можно считать продуктом распада более крупных ядер. Возникает вопрос, нельзя ли этот процесс, в соответствии с моими представлениями, рассматривать также по-иному, а не только как простое исчезновение клеточных ядер среди скоплений жировых зернышек.

Имея в виду конституцию клетки, я не могу не подчеркнуть еще один факт, касающийся химии яйца. Согласно Гоппе, вителлин, основное белковое вещество желтка, после полного экстрагирования лецитина не

содержит фосфора. Это важно как единственный пример альбуминового вещества клетки, отделенного от ядер в целости и с минимальными изменениями. То, что представлялось вероятным для клеток гноя, в данном случае несомненно: содержание фосфора в альбуминоподобном веществе — четкий критерий, позволяющий отличить ядро от тела клетки.

Почти все описанные здесь наблюдения и опыты были проведены в Физиологическом институте в Базеле в сентябре-октябре 1869 г.[5*] Учебная работа помешала мне тогда продолжить исследования. После возвращения в Базель в связи с предстоящим выходом в свет настоящей тетради я решил опубликовать результаты, касающиеся куриного яйца. В дополнение была проведена часть анализов заготовленного ранее материала.

Описание химического состава яиц различных классов животных я намереваюсь дать в последующих сообщениях.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ [1*]

Работа, открывающая настоящую тетрадь и касающаяся химического состава гноя, была выполнена зимой 1868/69 г. и затем летом в лаборатории Тюбингенского замка. Некоторые контрольные опыты были затем поставлены в Базеле, и исследование в том виде, каким оно представлено здесь, было завершено в октябре 1869 г. Задержка публикации отосланной мной статьи оказалась весьма полезной для меня, так как позволила профессору Гоппе-Зейлеру проверить часть моих исследований. Полученное им подтверждение моих данных было для меня тем более ценно, что первоначально он отнесся к ним с недоверием. Подобные сомнения, отчетливо прозвучавшие при упоминании о моих результатах и в новейшем издании «Химико-физиологического анализа», можно легко понять, если вспомнить, как часто фосфорсодержащие альбуминовые вещества появлялись в работах химиков, чтобы затем вновь исчезнуть из их поля зрения [2*].

Что касается результатов, которые получил профессор Гоппе и о которых он любезно написал мне, то совпадение с моими данными в основных моментах, как мне кажется, вполне удовлетворительно, учитывая, что речь идет о таком объекте, как гной, который как внутри, так и вне организма подвергается столь многочисленным разнообразным воздействиям, вызывающим его изменения. Существенно различные результаты были получены при сжигании; следует, однако, тщательно проверить, связано ли это с действительным непостоянством состава, с влиянием различных промывных жидкостей или с иными обстоятельствами. Проведенное профессором Гоппе-Зейлером более тщательное исследование спиртового экстракта и обнаружение гликогена послужили весьма желательным дополнением к представленным мной фактам, которые сложились, таким образом, в общую картину химической структуры клетки.

Данные профессора Гоппе-Зейлера совпадают с моими и в отношении

важнейшего результата работы — обнаружения нуклеина — альбуминоподобного фосфорсодержащего вещества, не относящегося ни к одной из известных до настоящего времени групп. Этот факт приобретает еще более важное значение в связи с открытием профессора Гоппе-Зейлера, нашедшего, что весьма сходное по химическому поведению и элементному составу вещество может быть выделено из дрожжевых клеток. Таким образом, обнаружен новый фактор, характерный для жизнедеятельности как низших, так и высших организмов, что порождает в общей физиологии целый ряд новых вопросов [3*].

Уже давно стало привычным рассматривать тканеобразующие альбуминаты как ключевое звено обмена веществ, от которого могут происходить все более просто построенные атомные комплексы животного организма. И если нуклеиновые тельца и не являются подобными центрами, с которыми тесно связан, например, обмен более простых фосфорсодержащих веществ, таких, как лецитин или фосфорнокислые соли, то они служат материалом для создания или продуктом разложения сложных составляющих тканей.

Каково отношение нуклеинов к истинным альбуминатам животного организма? Если возможно образование нуклеина из белка тканей, то мы имеем здесь новый синтетический процесс, аналогичный образованию гемоглобина. Быть может, обмен этих веществ в животных тканях целиком базируется на их поступлении извне? В этом случае возникают новые задачи в физиологии пищеварения.

Ответ на эти вопросы мало что добавит к нашим представлениям об особой роли нуклеинов в процессах жизнедеятельности клетки. Но если бы выяснилось, что между ядром и протоплазмой, как это кажется сейчас весьма вероятным, существует глубокая и в целом, несмотря на отдельные различия, для всех организмов одинаковая химическая противоположность, то мы стали бы на шаг ближе к пока еще столь далекому пониманию значения гистологических структурных элементов. Понятие ядра в этом случае перестанет базироваться на чисто внешних признаках, таких, как форма, размер, светопреломление, растворимость, которые позволяют делать выводы лишь по аналогии: ядерную природу исследуемых структур можно будет устанавливать по таким свойствам, которые находятся в более тесной связи с их физиологическими функциями. Определение содержания фосфора, достаточно точное для малых количеств, придаст суждениям о ядерной природе большую строгость и объективность, нежели те, к которым мы привыкли при принятом методе выявления и выделения альбуминоподобных телец. На основании уточненного таким образом понятия ядра можно будет в ряде случаев проследить такие процессы, которые из-за своеобразных изменений внешнего вида ядер не удается исследовать под микроскопом; я могу здесь сослаться на описанный ниже распад ядер яичного желтка, которые быстро исчезают среди жировых и белковых молекул [4*].

Естественно, при суждении о природе изученной структуры следует остерегаться слепого следования определенным догмам, например считать наличие гнойного нуклеина единственным решающим критерием. Нужно

по возможности всегда рассматривать все основные признаки, которые, будучи общими для всех телец данного типа, несомненно, являются характерными чертами их конституции.

Выяснение таких общих черт нуклеиновых телец, в особенности тех, которые отличают их от белковых веществ и других альбуминоидных компонентов тканей, и составляет задачу химического изучения различных нуклеиновых телец. Помимо названных направлений, большой интерес будут представлять также исследования продуктов распада этих веществ даже в случае, если выяснение собственно атомной структуры нуклеинов окажется в ближайшее время столь же малодоступным, как и выяснение атомной структуры белка[5*].

Я рад, что в результате исследования ядерных структур желтка куриного яйца мне удалось предоставить химикам — специалистам в данной области богатый материал, который не оставляет желать лучшего в том, что касается доступности и физиологической цельности и дает вещество, которое, будучи свободным от посторонних гистологических примесей, обладает ярко выраженными признаками нуклеиновых телец.

Базель, 22 октября 1870 г.

СПЕРМАТОЗОИДЫ НЕКОТОРЫХ ПОЗВОНОЧНЫХ. ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ[1*]

Как известно, в Базеле весьма активно ведется лов рейнского лосося (Salmo salar). В ноябре, в период нереста, эти крупные рыбы в большом количестве продаются на городском рынке. Зрелые половые продукты этих рыб идут в отходы. Большое предприятие по искусственному разведению рыб в соседнем Хюнингене получает всю необходимую икру лосося, в количестве нескольких миллионов икринок в год, у г-на Фридриха Глазера, владельца самой крупной здешней рыбной лавки.

Для физиолога здесь открываются исключительно широкие возможности в смысле получения спермы. Иногда мне удавалось с разрешения продавца собирать за один раз от одной рыбы почти целую кружку маслянистой жидкости, которую называют «лососевым молоком». Наиболее чистый секрет в виде ослепительно белого крема можно получить от живой рыбы; от мертвой рыбы вместе с молоком выделяется также желчь, моча и кровь.

Сперма рыб более удобна для научных исследований, чем сперма других животных[1]. Секрет семенника здесь не загрязнен примесью продуктов других добавочных желез. Мы получаем в этом случае только сперматозоиды, суспендированные в разбавленном растворе соли. Большие количества этих телец могут быть выделены из самих зрелых половых желез; в сильно расширенных каналах таких желез скапливаются огром-

[1] Статью об открытии протамина см. на с. 175.

ные массы семенных клеток, так что иногда можно использовать весь орган целиком. Семенник 20-фунтового лосося, который в марте весит приблизительно 15—20 г, к ноябрю весит более 300—400 г.

Почти весь материал, на котором проводились данные исследования, я получил благодаря дружеской любезности г-на Фридриха Глазера, который и ранее оказывал существенную помощь в проведении научных исследований на рыбах.

1. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА СПЕРМАТОЗОИДОВ ЛОСОСЯ И НЕКОТОРЫХ ДРУГИХ КОСТИСТЫХ РЫБ

В сперматозоиде лосося, как и других позвоночных, можно различить головку, хвост и шейку. Как характерную особенность следует подчеркнуть исключительно слабое развитие двух последних частей по сравнению с головкой. Хвост представляет собой прямую прозрачную исключительно тонкую нить длиной примерно 45μ особенно четко он виден на сухом препарате. Хвост мало устойчив к внешним воздействиям; разбавленная (0,1%) соляная или уксусная кислота сразу же растворяет его, в дистиллированной воде он быстро становится, по крайней мере, значительно менее заметным. 10%-ный раствор поваренной соли, напротив, не вызывает набухания или разрушения сперматозоида, а способствует его сохранению, делает его более четко видимым. Так же как и хвостовая нить, ведет себя по отношению к химическим воздействиям и небольшой бледный узелок, который можно назвать шейкой. Я не могу подтвердить данные Овсянникова[2] о том, что хвост при воздействии воды втягивается подобно псевдоподиям. Возможно, эти данные связаны с ошибочным представлением Овсянникова о шейке.

Головка сперматозоида, по сравнению с которой масса остальных частей клетки исчезающе мала, сильно преломляет свет и имеет вид поперечно разрезанной фасоли; края сечения закруглены, а его средняя часть несколько втянута внутрь, так что если смотреть сбоку, то форма всей головки слегка напоминает форму сердца. Я не наблюдал таких различий в размерах, которые бы, безусловно, превышали ошибки измерений. При сравнении сперматозоидов, полученных от двенадцати особей по возможности в одинаковых условиях, в каждом случае проводились измерения многих клеток при добавлении йодистой сыворотки — были получены очень точно совпадающие результаты для максимального размера в длину — 3,3 μ, причем отклонения от этой величины более чем на $^1/_3$ при этих измерениях не наблюдалось. Максимальная ширина составила 2,5 μ, толщина — приблизительно 1,3 μ.

Однако на этом не заканчивается описание внешней формы головки сперматозоида. Если добиться более тщательной фокусировки, то посреди широкой поверхности головки можно заметить тень, от которой по направлению к шейке тянется темная полоска. При еще более глубокой фокусировке происходит обращение распределения света и тени. Эту картину не-

[2] Bulletin de l'Acad. de St. Pétersb., XIII, 245.

давно описал и без дальнейших объяснений дал Гис[3]. Овсянников видел ее еще раньше и считал, что она отражает продольную борозду. Но так как головка, расположенная вертикально относительно наблюдателя, всегда выглядит в сечении под микроскопом овальной и никогда не кажется перетянутой, то это объяснение отпадает, а пятно в центре следует связывать с некоторой особенностью внутреннего строения.

Это предположение с очевидностью подтверждается микрохимической реакцией. Сильно разбавленный водой спиртовой раствор цианина (хинолиновый голубой), обесцвеченный добавлением в точности необходимого для этого количества соляной кислоты, вновь приобретает голубую окраску при действии щелочей, углекислых и фосфорнокислых солей щелочных и щелочноземельных металлов. На возможность применения этого реагента в гистологических исследованиях мне указал профессор В. Гис. Если обработать совершенно свежую сперму лосося указанным бесцветным раствором, то жидкость, которая вызывает также посинение лакмуса, окрашивается, а форменные элементы приобретают еще значительно более яркую окраску. Исследование под микроскопом показывает, что внутри головки сперматозоида всегда остается слабо преломляющее свет бесцветное пространство, которое отделено четким контуром от толстой плотной оболочки, имеющей более или менее глубокую голубую окраску. Результат остается неизменным независимо от того, рассматривается ли широкая сторона головки, узкая сторона или ее оптический поперечный разрез. При этом можно видеть, что светлое внутренее пространство занимает более или менее центральное положение, а его форма приблизительно повторяет форму всей головки и может быть в крайнем случае лишь несколько более сплющенной. Наибольшая ширина внутреннего пространства незначительно превышает толщину оболочки. Окрашивание широкого слоя оболочки не связано с окрашиванием жидкости — оно проявляется даже в том случае, когда сперма дает в точности нейтральную реакцию. При более длительном воздействии большого количества воды происходит удаление из клеток вещества, вызывающего окрашивание, при этом вода окрашивается, а семенные клетки обесцвечиваются. В соответствии с тем что будет сказано ниже относительно растворимых в воде составных частей семени, можно предположить, что эта «красивая» реакция вызывается фосфорнокислыми или углекислыми солями, которыми пропитано содержимое оболочки.

Для выявления внутренней структуры можно использовать и другие вспомогательные средства. Нередко уже в свежих семенных клетках сильно преломляющая свет оболочка отделена от слабо преломляющего внутреннего пространства четкой границей. Эта граница становится еще более четкой при добавлении уксусной или очень разбавленной (0,1%) соляной кислоты, в результате чего существенно возрастает различие в степени преломления света. Напротив, добавление 10%-ного раствора поваренной соли или полунасыщенного раствора селитры приводит к исчезновению оптических различий; в растворах оболочка сразу же набухает и бледнеет.

[3] Ueber das reife Ei von Knochenfischen etc. Leipzig, 1873 [(табл. 1, фиг. 8)].

Описанное выше внутреннее пространство головки негомогенно; уже названные методики обработки позволяют иногда с большей, иногда с меньшей отчетливостью видеть дальнейшие детали. Наиболее ярко они проявляются после многочасового воздействия хлоридом золота (0,5%) и последующего освещения. При этом оболочка остается совершенно бесцветной, а отделенное от нее четкой границей внутреннее пространство, напротив, приобретает интенсивно желтую окраску. Внутри желтого внутреннего пространства выделяется своеобразная структура, остающаяся бесцветной. Эта структура, как показывает оптический поперечный разрез, представляет собой объемистую, сильно преломляющую свет, несколько сплющенную прямую палочку, у начала — около основания внутреннего пространства, в точности напротив того места, где прикрепляется хвост, — слегка заостренную. Она тянется в направлении длинной оси головки на три четверти длины внутреннего пространства, где тупо заканчивается. Если при помощи хорошей оптической системы (Hartnack, imm 10) рассмотреть толстую оболочку в том месте, где от нее отходит палочка, то можно заметить пронизывающую стенку очень тонкую линию, темную при более слабой и светлую при более глубокой фокусировке. Это, безусловно, отражение очень тонкого, заполненного слабо преломляющим свет веществом канала в стенке оболочки, посредством которого шейка сообщается с центральной палочкой. Этот канал, который я буду называть микропором, можно иногда заметить и в том случае, если вместо хлорида золота применять цианин; даже на свежей семенной клетке он намечается в виде упомянутой выше линейной тени. Для выявления необходима особая тщательность, и даже не во всех объектах, одновременно попадающих в поле зрения, он выглядит одинаково четко; по-видимому, различить микропор позволяет лишь незначительная разница в величинах светопреломления вещества, заполняющего канал, и вещества оболочки. То, что эти вещества различаются химически, следует из их поведения в отношении раствора поваренной соли. В начале воздействия можно нередко видеть бледную оболочку, пронизанную тонкой, теперь относительно более сильно преломляющей свет нитью, которая тянется от шейки внутрь головки.

Из сперматозоидов других костистых рыб я изучил пока сперматозоиды карпа и щуки. Семенные клетки карпа имеют свойство набухать в дистиллированной воде, превращаясь в стекловидную слизь. Это набухание можно замедлить и рассмотреть форму структур, если использовать для разбавления спермы 0,5%-ный раствор хлорида бария или кальция. Однако и в обоих этих растворах по окончании набухания слизь выпадает непрозрачными хлопьями, сперматозоиды при этом теряют свою форму. В семенных клетках карпа между головкой и хвостом также можно различить очень бледную шейку в форме узелка, которая, по-видимому, имеется всегда, хотя рассмотреть ее иногда удается лишь с трудом. Хвост здесь немного тоньше, чем у сперматозоида лосося. Головка по форме приближается к полушару; ее продольный и поперечный размеры почти одинаковы и составляют приблизительно 2,5 μ. Хорошо различимы также толстая оболочка, которую хлорид золота окрашивает в желтый цвет, слабо преломляющее свет внутреннее пространство и более сильно прелом-

ляющая свет центральная палочка, которая имеет отчетливое утолщение на конце. Иногда удается увидеть также и микропор.

Сперматозоиды щуки из-за их малого размера представляют собой еще менее удобный объект для исследования, чем семенные клетки карпа. Максимальный размер их головки примерно 1,8 μ. Тем не менее можно убедиться, что их структура в наиболее существенных чертах совпадает со структурой описанных выше семенных клеток. Оболочка, внутреннее пространство и центральная палочка четко видны при использовании хорошей (оптической) системы. Головка напоминает по форме головку сперматозоида карпа, а вещество оболочки похоже на соответствующее вещество из спермы лосося в том отношении, что набухание с образованием слизи происходит не в воде, а в растворе поваренной соли.

2. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ СПЕРМАТОЗОИДОВ РЕЙНСКОГО ЛОСОСЯ

Существуют различные старые данные, касающиеся химии семени, которые, хотя и фрагментарны и нечетки, указывают на наличие интересных закономерностей. Уже со времени исследования Фуркруа и Воклена[4] (1791) известно, что семя содержит значительное количество фосфора. Гобли[5] (1851) нашел богатый фосфором жир (лецитин) в семенных железах карпа. Кёлликер[6] наблюдал образование миелиновых структур при распаде семени быка, Фрерихс[7] исследовал семя различных классов животных. Оказалось, что в сперматозоидах карпа и кролика наряду с большим количеством экстрагируемого эфиром продукта содержится в качестве основного компонента альбуминоидное вещество, растворимое в щелочах, но нерастворимое в избытке кислот. Этих реакций было в то время (1852 г.) достаточно, чтобы этому веществу было дано название двуокиси протеида, которая, согласно Мульдеру, должна была присутствовать в наибольших количествах в эпителиальных и роговых тканях; однако в ее химическую индивидуальность в настоящее время уже никто не верит. В семени домашнего петуха, наоборот, преобладают истинные белковые тельца. Весьма важными представляются данные Фрерихса о том, что полностью экстрагированная эфиром сперма карпа дает при сжигании уголь и свободную фосфорную кислоту. Эти данные остались, однако, незамеченными; они не вошли в большинство принятых руководств по физиологической химии.

Толчком к проведению описываемых ниже исследований стало широко распространенное ныне среди гистологов мнение, что если не весь сперматозоид в целом, то по крайней мере его головка генетически, а также по микрохимическим реакциям должна играть роль измененных клеточных ядер. В этих исследованиях я надеялся получить чрезвычайно легко доступный материал для изучения ядерных структур и нуклеино-

[4] Annales de Chimie, IX, 64.
[5] Annalen der Chemie und Pharmacie. XL. 275.
[6] Zeitschr. f. wiss. Zool., VII.
[7] Todd, Cyclop., IV, 505.

вого вещества, тем более что как раз в сперматозоидах лосося масса нити почти исчезающе мала по отношению к массе головки, и, следовательно, если указанное выше суждение справедливо, то мы здесь имеем дело с почти чистыми интактными ядрами.

Эти надежды оправдались самым замечательным образом [2*].

В порции очень чистой не до конца промытой водой и высушенной при откачивании воздуха спермы анализ с применением натронной извести выявил 18,78% N, при сжигании с содой и селитрой получено 11,31% P_2O_5. Высушенное вещество семенника после сжигания с содой и селитрой содержало для двух различных особей 0,278 и 0,280% серы. Небольшую часть найденной фосфорной кислоты следует отнести на счет растворимых фосфорнокислых солей, которые осаждаются из нейтрального или щелочного водного экстракта, полученного без предварительного озоления, не аммиаком, а магнезиальной смесью. Их содержание в зрелом семеннике составило 0,85%, в порции чистой спермы — 0,45% в расчете на обезжиренное сухое вещество. Фосфорнокислая известь или магнезия не могут быть достаточно точно учтены. Анализ золы наталкивается на значительные трудности, связанные с образованием твердого, как камень, и с трудом поддающегося сжиганию кислого угля. Но при экстракции свежего или обезжиренного семени, разбавленного соляной кислотой, в растворе едва обнаруживаются следы щелочноземельных металлов; если вещество было предварительно хорошо промыто водой, то так же мало переходит в раствор и фосфорной кислоты. Фосфор здесь, безусловно, связан с органическим веществом. Одна треть общего количества серы содержится в виде растворимых солей серной кислоты.

Таким образом, мы получаем, что содержание фосфора в сперматозоидах выше, чем в лецитине, содержание азота выше, чем в белке, а содержание серы ниже, чем в любых клеточных тканях.

Содержание твердых компонентов в еще пропитанном кровью, но уже секретирующем семеннике составило 22,88%, в зрелом свободном от крови органе — 25,5%. Если теперь учесть, что межклеточная жидкость представляет собой не что иное, как очень разбавленный раствор соли, то оказывается, что сама клеточная масса имеет значительную плотность.

Семенные клетки могут быть отделены от жидкости различными способами. Прямое фильтрование удается плохо, форменные элементы также далеко не полностью выпадают в осадок. Если взболтать сперму с эфиром и водой, то сперматозоиды переходят в пограничный слой, и спустя некоторое время можно отделить более или менее прозрачную водную вытяжку. Она дает сильнощелочную реакцию и содержит хлористые, фосфорнокислые, углекислые и сернокислые соли щелочных металлов, а также очень небольшие количества органического вещества, однако вовсе не содержит сахара. В двух случаях сперму получали от живых рыб; в этих случаях жидкость была полностью свободна от белка. В других порциях, полученных от мертвых животных, были найдены очень малые количества щелочных альбуминатов, которые осаждались уксусной кислотой, но растворялись в ее избытке. Не было обнаружено даже

следов органических оснований или других азотсодержащих веществ. Упомянутая выше не содержащая белка семенная жидкость оставалась прозрачной, если не считать возможного помутнения из-за образования солей при добавлении уксуснокислого свинца, танина, сулемы, нитрата, ртути, ферроцианата калия, фосфорномолибденовой кислоты, йодмеркурата калия. Таким образом, перед нами простой раствор соли; это исключает все подозрения о том, что межклеточная жидкость играет существенную роль в оплодотворении.

Более удобный метод отделения семенных клеток состоит в подкислении небольшим количеством уксусной кислоты, семенные клетки сразу же выпадают в виде плотного порошкообразного осадка. Щелочные альбуминаты при этом также осаждаются, однако в большинстве случаев их настолько мало, что под микроскопом аморфные частицы едва заметны среди форменных элементов. Нити вскоре после подкисления становятся невидимыми, так что практически приходится иметь дело только с собственно головками семенных клеток. Сходный эффект дает также добавление 0,5%-ного раствора хлористого кальция или бария. Сперматозоиды, вещество которых, очевидно, становится плотнее, выпадают при этом в осадок в виде белоснежного порошка. Из зрелого семенника, продавленного через тюлевое сито после взмучивания в воде, можно в большом количестве получить сперматозоиды описанным выше способом. Они крайне незначительно загрязнены клетками семенника, иногда почти вовсе не содержат примеси альбумината, хотя в случае менее зрелого семенника такими примесями не следует пренебрегать.

При проведении этих опытов бросается в глаза одна особенность, которая наиболее характерна для совершенно зрелых семенников, а именно чрезвычайно малое количество крови. Содержание крови в этом органе — часто в течение года во время периода созревания весьма значительное — сильно снижается при приближении половой зрелости. Анемия достигает наконец такой степени, что наружная поверхность и поверхность разреза становятся белоснежными, а вода, используемая при растирании такой железы, имеет после отделения форменных элементов лишь слабо-розовую окраску. После осаждения щелочных альбуминатов жидкость часто содержит очень небольшие количества растворимого белка. Реактив Несслера и соляная кислота не вызывают выпадения осадка, что исключает наличие пептонов или азотсодержащих органических оснований. Вначале полностью созревает верхняя часть семенника, отсюда процесс созревания быстро распространяется книзу. Поэтому может случиться так, что в основной массе органа еще имеется некоторое количество крови, тогда как в семявыводящем протоке уже содержится зрелый секрет, выделенный верхними отделами железы. Однако уже в это время во всем органе образуются зрелые сперматозоиды. У карпов наблюдается значительно более сильное различие в степени зрелости разных отделов железы.

Прекращение притока крови, безусловно, оказывает влияние на созревание семенных клеток и в особенности на их отделение от базальной мембраны. Быть может, это аналогично тому, что наблюдается у растений, когда прекращение притока соков приводит к падению плода.

Химическое исследование сперматозоидов непосредственно в свежем состоянии дает мало нового; здесь мы имеем дело с резистентным веществом, которое лишь с трудом растворяется во всех растворителях. Калиевая щелочь и раствор соды дают мутные студни; при добавлении к последним кислот выпадают нерастворимые в избытке кислоты хлопья. Неразрушенные семенные клетки еще долгое время остаются суспендированными в студне.

Поваренная соль или 10—15%-ный раствор селитры значительно более интенсивно разрушают семенные клетки, чем даже кипящая калиевая щелочь или горячая концентрированная соляная кислота. Достаточно мгновенного взбалтывания, и сразу же образуются прозрачные слизистые комки студня, которые почти что можно резать ножницами и в которых под микроскопом сперматозоиды не обнаруживаются. Под микроскопом можно видеть, как при воздействии поваренной соли толстая оболочка головки несколько бледнеет, чрезвычайно сильно разбухает и наконец становится невидимой. Шейка и хвост, наоборот, остаются неизменными и сохраняются даже лучше, чем в воде. В набухшей массе можно видеть одно или несколько беспорядочно рассеянных блестящих круглых зернышек или капелек. Первоначально этих зернышек не было, и они возникли, как это станет ясно позднее, лишь в результате химического воздействия соли. Добавление воды к студню, полученному под действием раствора поваренной соли, вызывает выпадение прозрачных хлопьев, которые постепенно сморщиваются и теряют прозрачность. Подкисленная вода дает совершенно непрозрачную плотную волокнистую, вязкоэластичную массу; структура семенных клеток не восстанавливается.

Интересно было выяснить, содержат ли сперматозоиды по аналогии с другими элементарными тельцами, клетками гноя, печени, мышечными волокнами нерастворимые в воде, но растворяющиеся в разбавленных кислотах и солях белковые вещества. Упомянутая выше семенная жидкость живого животного, водный экстракт которой не содержал и следов белка, была затем обработана 0,1%-ной HCl. При нейтрализации фильтрата во всех случаях появлялась незначительная муть, которая при кипячении собиралась в хлопья, дававшие реакции истинных белковых тел, а именно реакцию Миллона. Не подлежит сомнению, что эти следовые количества белка происходят из шейки и хвоста, которые, собственно, и растворяются разбавленными кислотами. Но, поскольку обе части сперматозоида, судя по результатам микроскопии, устойчивы к растворам поваренной соли, то здесь следует думать не о миозине, а о других белковых компонентах мышечной ткани, растворимых в 0,1%-ной HCl (вещество мышечных призм).

После экстракции разбавленной кислотой семенная масса еще дает отчетливое, хотя и не очень интенсивное красное окрашивание[8] с реактивом Миллона и, следовательно, еще содержит истинный, но с трудом экстрагируемый белок.

[8] Реакция Миллона — наилучшая реакция для нерастворенных белков — всегда проводилась по методу Кюне: кипячение с не содержащим кислоты нитратом ртути и последующее добавление желтоватой азотной кислоты.

Спиртово-эфирный экстракт. Обезжиривание спермы лучше всего производить теплым спиртом. Остаток от испарения экстракта почти полностью растворяется в эфире. Не переходит в эфир лишь небольшое количество растворимого в воде рыхлого вещества, состоящего из солей органических и неорганических кислот (молочной кислоты?). Следовательно, в экстракте нет церебрина и вообще отсутствуют все неомыляемые вещества, кроме холестерина. Как определил г-н студент фон Шпейр, 46% свинцовых солей жирных кислот не растворились в эфире. Эфирный экстракт состоит наполовину из лецитина, наполовину из жира и холестерина. О наличии лецитина свидетельствуют следующие данные: получение растворимого в эфире и нерастворимого в спирте хлорплатината лецитина, кристаллизация кальциевой соли глицеринофосфорной кислоты при нагревании ее раствора, образование характерных оранжево-красных пластинок легко растворимого в воде платиноаммониевого производного нейрина, а также труднее растворимых желтых игл аурата этого же основания, выделение солянокислого нейрина в виде расплывающихся игл.

0,2450 г двойной золотой соли дали при прокаливании 0,1089 г золота = 44,45% золота (по расчету 44,43%).

В приводимой ниже табл. I содержатся некоторые количественные данные. Эфир удаляли под вакуумом, остаток эфирной вытяжки высушивали при 105°.

Состав эфирного экстракта довольно точно совпадает в трех анализах спермы, которая была непосредственно обработана спиртом. Можно предположить, что несколько иной результат в колонке IV связан с потерями при подкислении и промывании. Остается пока не ясным, действительно ли имеются значительные колебания в содержании жира.

Нерастворимый в горячем спирте остаток, тканеобразующий скелет семенных клеток, еще дает реакцию Миллона и ксантопротеиновую реакцию. Он еще содержит невымываемую водой серу, разбухает, хотя и медленно, в растворе поваренной соли и растворяется без образования студня в калиевой щелочи, тогда как растворы аммиака и соды ничего не извлекают из этого остатка.

Табл. II содержит результаты некоторых анализов фосфора, серы и азота. Все исследованные вещества обрабатывались водой, а также горячим спиртом и эфиром и высушивались при 105°.

Замечательно близкое совпадение содержания фосфора наблюдалось в четырех исследованных порциях спермы, взятых от различных животных. Можно думать, что мы имеем дело с кристаллами одного химически чистого вещества. Результаты анализа пятой порции несколько отличаются лишь потому, что в этом случае сперму получали из семенника, и она, следовательно, была не вполне чистой.

Действительно, дальнейшие исследования покажут, что это единственное вещество, составляющее подавляющую часть исследуемого здесь остатка, представляет собой нерастворимое солеподобное соединение весьма богатого азотом органического основания и богатого фосфо-

Таблица I

	I	II	III	IV	V
	Сперма, полученная из молок прямым осаждением спиртом			Образцы, полученные из сперматозоидов, осаждением спиртом	Сперма из тестикул, осажденная спиртом
Вес образца, г	1,0550	2,0825	4,5967	5,8770	
Найдено в эфирном экстракте, г	0,1553	0,2975	0,6307	0,6440	0,3835
$Mg_2P_2O_7$ — содержание в эфирном экстракте	0,0112	0,0212	0,0460	0,0470	0,0280
Процентное содержание в сперме эфирорастворимых веществ	14,72	14,29	13,72	10,95	
Процентное содержание в сперме эфиронерастворимых веществ	85,28	85,71	86,50	89,05	
Лецитин, %	52,46	51,84	53,06	53,09	53,12
Холестерин, %	} 47,54	} 48,16	15,76	} 46,91	13,00
Жиры, %			31,18		32,88

Таблица II

	Вес образца, г	Найдено, г		Найдено, %			
		$Mg_2P_2O_7$	$BaSO_4$	Pt—эквивалент кислоты	P	S	N
1. Чистые изолированные сперматозоиды	0,4953	0,0969	—	—	5,464	—	—
2. То же, 2-й образец	0,3868	—	—	5,81мл*	—	—	21,03
3. То же, 3-й образец	0,4845	0,0943	—	—	5,436	—	—
	0,5173	0,1007	—	—	5,475	—	—
	1,8045	—	0,0265	—	—	0,201	—
4. То же, 4-й образец	0,2810	—	—	0,4133	—	—	20,73
5. Сперматозоиды из тестикул, осажденные спиртом	0,4967	0,0968	—	—	5,443	—	—
6. Вещество половых желез (очищенное)	0,4132	0,0790	—	—	5,340	—	—
	2,4750	0,4012	0,0346	—	4,650	0,192	—

* Результат титрования (прим. ред.).

ром нуклеинового вещества, играющего роль кислотного остатка. И все же, как станет ясно из дальнейшего изложения, здесь мы имеем дело со смесью. В ней присутствуют также другие вещества, относящиеся к группе белков. И как раз тот факт, что здесь всегда поддерживается строго постоянное соотношение компонентов, безусловно, имеет чрезвычайно важное значение [3*].

Протамин. Для получения основания, которое я предлагаю назвать протамином, обезжиренную сперму экстрагируют разбавленной 1—2%-ной соляной кислотой; бо́льшую часть избытка кислоты нейтрализуют, а затем добавляют хлорид платины. Протамин полностью осаждается в виде платиноаммониевой соли. Смесь оставляют на несколько недель; красивый желтый, вначале смолистый, осадок становится зернисто-кристаллическим и полностью выпадет в виде агрегатов из сильно преломляющих свет шаров и комков. Он почти совершенно нерастворим в воде, спирте, эфире, хлороформе и бензоле, но растворяется в избытке соляной кислоты. После полного выпадения осадка освобожденный от платины фильтрат не дает больше мути при добавлении йодмеркурата калия и фосфорномолибденовой кислоты, следовательно, в нем нет других оснований. Единственной примесью являются следовые количества продуктов распада фосфорсодержащего вещества. После разложения действием H_2S и еще одного осаждения получается свободный от фосфора продукт. Для очистки тонко измельченное вещество следует тщательно промыть водой, так как солянокислая соль часто осаждается вместе с хлоридом платины. Получающаяся в виде желтого порошка платиноаммониевая соль не отдает соляную кислоту в токе сухого воздуха при 100°, ее можно высушивать без сублимации или разложения при 105°. Приблизительно при 120° она плавится и начинает разлагаться.

Второй способ выделения протамина заключается в быстрой экстракции азотной кислотой, нейтрализации и последующем осаждении нитратом ртути. Получается объемистый осадок в виде белых хлопьев, растворимый в избытке кислоты, обычно еще содержащий следы фосфора. После разложения его сероводородом образуется раствор, дающий щелочную реакцию.

Солянокислый протамин выделяется в виде резиноподобной массы после разложения платинового нашатыря сероводородом и быстрого упаривания; при медленном удалении растворителя над серной кислотой он кристаллизуется, правда, лишь частично и с трудом. Почти микроскопические кристаллы, безусловно, относятся к ромбической системе. Чаще всего они имеют форму длинных, со всех сторон хорошо ограниченных столбиков прямоугольной формы ($\infty P O P$), однако встречаются также толстые пластинки и иглы.

Легче кристаллизуется азотнокислая соль, которая получается при разложении сероводородом ртутного соединения с последующим добавлением кислоты. При высушивании над серной кислотой все вещество до самой последней крупинки кристаллизуется в виде одинаковых друз, которые состоят из микроскопических призм и пластинок, по-видимому, также ромбических.

Обе соли легко растворяются в воде, с большим трудом — в спирте и не растворяются в эфире. Они имеют весьма своеобразный, преимущественно вяжущий, слегка сладковатый и одновременно горький вкус.

Помимо уже описанных, растворы протаминовых солей дают следующие реакции.

С фосфорномолибденовой кислотой и йодмеркуратом калия: выпадает светло-желтый объемный хлопьевидный осадок.

С ферроцианатом калия: получается молочно-белая муть, которая совершенно не образует хлопьев, но постепенно осаждается на стенках сосуда в виде микроскопических полужидких блестящих капелек. Слишком большой избыток кислоты препятствует протеканию реакции. Эту реакцию можно применять для обнаружения протамина даже в очень разбавленных растворах. Сходную реакцию дают феррицианат калия и платинацианат калия.

С хлоридом ртути: получается молочного вида муть, образованная полужидкими каплями, с трудом растворимая в избытке кислоты.

С аммиачными растворами серебра и меди: муть не образуется. Нейтральный нитрат серебра дает белый, хлопьевидный осадок, не очень легко растворяющийся в разбавленной азотной кислоте.

Хлорид золота осаждает из концентрированного раствора солянокислой соли окрашенную в оранжевый цвет пластичную массу, которая растворяется при разбавлении.

Избыток аммонатов сам по себе не вызывает никаких изменений. Если же к раствору, содержащему не слишком много соли аммония, добавить затем небольшое количество сернокислого натрия, то появляется сильная муть молочного вида, состоящая из жидких, но крупных сильно преломляющих свет капель. Сернокислый натрий в отсутствие аммония оставляет раствор прозрачным. Муть легко растворяется в избытке минеральных кислот, а также в едком натре и солях аммония. Она исчезает особенно легко при нагревании и в большом избытке воды. Совершенно так же ведут себя фосфорнокислые соли щелочных металлов в присутствии избытка аммония.

Если осторожно выпарить небольшую порцию смеси протаминовой соли с азотной кислотой, то появляется лимонно-желтое пятно. При обработке натриевой щелочью оно приобретает красивое красное окрашивание, которое при нагревании на некоторое время переходит в фиолетовое. Эта реакция заслуживает особого внимания — точно так же ведет себя ксантин.

При нагревании соединения протамина плавятся и выделяют едкий дым, который дает щелочную реакцию; остающийся при этом уголь сгорает лишь с трудом. Дым вызывает посинение содержащей медь гваяковой бумажки, что указывает на наличие синильной кислоты (Шенбайн).

Получение протамина в свободном состоянии связано с большими трудностями. Калиевая щелочь осаждает из концентрированных растворов его солей маслянистые капли, которые не переходят в эфир или спирт и растворяются в воде при разбавлении. Свежеосажденная окись серебра дает с солянокислым протамином при стоянии наряду с хлори-

стым серебром нерастворимое соединение основания с металлом. С помощью гидроокиси магния не удается отделить кислотную часть от солей протамина. Однако если разложить окисью бария светло-желтый осадок, полученный действием фосфорномолибденовой кислоты, и удалить избыток окиси бария угольной кислотой, то получается свободное основание в виде резиноподобной нелетучей массы, которая разлагается при возгонке, растворяется в воде с образованием щелочного раствора, но не растворяется в эфире и спирте.

При анализе двойной платиновой соли из пяти различных препаратов получены следующие значения.

I. 0,2054 г дали при прокаливании 0,0488 г платины = 23,76% Pt. 0,7377 г были сожжены с натронной известью и использованы для насыщения 8,13 мл нормальной серной кислоты = 15,43% N.

II. 0,5924 г дали при прокаливании 0,1370 г платины = 23,13% Pt. 0,2640 г дали при прокаливании с натронной известью 0,2934 г платины = 15,87% N. 0,2987 г при сжигании с хромовокислым свинцом и находившейся в приемнике окисью меди и медью дали 0,2629 CO_2 = = 24,01% C[9].

III. 0,5706 г дали при прокаливании 0,1350 г платины = 23,66%. 0,4175 г при нагревании с азотной кислотой по Кариусу дали 0,4064 г AgCl = 25,05% Cl. 0,3928 г дали при прокаливании с натронной известью 0,4205 г платины = 15,10% N.

IV. 1,3440 г дали при прокаливании 0,3312 г платины = 24,64% Pt. 0,7250 г дали 0,6158 г CO_2 и 0,2842 г H_2O = 23,16% C и 4,35% H. 0,2430 г дали 0,2585 г платины при прокаливании с натронной известью = 15,00% N.

V. 0,7365 г дали при прокаливании 0,1807 г платины = 24,53% Pt. 0,5580 г дали 0,4748 г CO_2 и 0,2158 г H_2O=23,31% C и 4,29% H. 0,5387 г дали 0,4565 г CO_2 и 0,2065 г H_2O=23,11% C и 4,24% H.

Эти числа указывают на то, что на пять атомов азота приходится один основной аммониевый остаток. Однако, за исключением результатов II, содержание платины во всех случаях несколько выше, чем то, которое соответствует пятой части от количества азота.

Аномально высокое содержание платины в двух последних препаратах, вероятно, связано с тем, что в обоих случаях раствор протамина выливали в избыток раствора хлорида платины. Учитывая очень тщательное промывание, маловероятно, чтобы хлорид платины увлекался осадком чисто механически. Скорее следует допустить, что один из четырех неаммонийных атомов азота протамина проявляет слабоосновные свойства; это и может вызывать соосаждение некоторого количества платиновой соли. Если по приведенным выше результатам, за вычетом хлорида платины рассчитать состав свободного основания то совпадение анализов окажется достаточно хорошим, чтобы можно было исключить предположение о смеси нескольких оснований.

---

[9] Определить содержание водорода не удалось из-за присутствия водорода в меди, обнаруженного, к сожалению, слишком поздно.

Числа, рассчитанные указанным путем[4*], лучше всего согласуются с формулой



$$C_9H_{20}N_5O_2(OH).$$

	Рассчитано, %	Найдено, % I	II	III	IV	V
C_9	43,72		43,00		44,14	43,92
H_{21}	8,50				8,68	8,52
N_5	28,34	28,33	28,16	27,72	28,48	
O_3	19,44					

Здесь нужно упомянуть лишь об одном предварительном эксперименте, касающемся продуктов разложения протамина. Его солянокислую соль, полученную из платинового нашатыря, нагревали продолжительное время на водяной бане с избытком соляной кислоты, а затем раствор выпаривали. После добавления воды на дне остались толстые короткие микроскопические призмы плохо растворимого вещества, которое дает с азотной кислотой и едким натром, как описано выше, исключительно четкую ксантиновую реакцию. Кристаллы легко растворялись в солях аммония, а действие аммиачного серебра на этот раствор вызывало образование объемного студня. Из раствора студня в горячей азотной кислоте выпадает при охлаждении обильный кристаллический осадок азотнокислого соединения серебра, который состоит из микроскопических друз призм и пластинок, относящихся, по-видимому, к клиноромбической (моноклинной) системе. Напрашивается предположение, что простым разложением протамина можно получить ксантин или родственное ему соединение. Однако высокое содержание водорода в протамине свидетельствует о том, что это, вероятно, не сам ксантин.

Протамин появляется лишь на поздних стадиях процесса созревания семени. За 4—6 нед. до половой зрелости в семенниках, уже содержащих большие количества богатых ядрами формирующихся клеток, еще полностью отсутствует протамин. Он обнаруживается лишь тогда, когда внутри этих клеток начинают возникать структуры, напоминающие по своей форме и сильному светопреломлению головки сперматозоидов.

Нуклеин. Вещество, остающееся после экстракции соляной кислотой, дает реакцию Миллона; под микроскопом в нем еще видны оболочки и содержимое клеток. Оно уже не набухает в растворе поваренной соли, но отчасти набухает в дистиллированной воде.

0,3028 г этого вещества дали с натронной известью 0,2199 г платины = 13,45% N. 0,2302 г понадобились для насыщения 2,91 мл нормальной кислоты = 13,45% N. 0,2262 г дали 0,0664 г $Mg_2P_2O_7$ = 8,198% P (18,79% P_2O_5).

Получение в чистом виде фосфорсодержащего нуклеинового вещества, связанного с протамином, оказалось далеко не простой задачей. Из-за той легкости, с которой это вещество разлагается, а также из-за его склонности переходить в нерастворимые модификации добиться воспроизводимых результатов можно только при исключительной тщательности. Как правило, следует заботиться о том, чтобы каждая начатая операция

доводилась до конца как можно быстрее. Вещество нельзя на продолжительное время оставлять в контакте ни с избытком щелочи, ни с избытком сильной кислоты. По возможности желательно работать в холодное время года. В конце концов я остановился на следующем способе, который зарекомендовал себя как достаточно надежный.

Приблизительно 25 г спермы, полностью экстрагированной горячим спиртом, исчерпывающе и, насколько возможно, быстро экстрагируют разбавленной соляной кислотой (1%-ный раствор) до тех пор, пока экстракт не перестает давать мути с желтой кровяной солью. Нельзя допускать контакта оставшейся массы вещества с имеющей нейтральную реакцию водой, так как при таком контакте оно набухает и становится комковатым. Нерастворившийся остаток очень тонко размельчают и взмучивают в воде, содержащей соляную кислоту (0,5%-ный раствор). Добившись возможно более тонкого размельчения, к жидкости добавляют большой избыток натриевой щелочи. Нагревание недопустимо. Спустя несколько минут жидкость фильтруют через крупнопористую фильтровальную бумагу; прозрачный раствор должен быть почти бесцветным или в крайнем случае светло-желтым. К каждой порции фильтрата без промедления добавляют половинное количество спирта и в точности необходимое количество соляной кислоты. При этом появляется совершенно бесцветный хлопьевидный осадок; в отсутствие спирта он осаждается лишь очень неполно. Выпадению осадка также способствует добавление поваренной соли.

Полученное таким образом вещество совершенно свободно от белка. Если действовать согласно приведенной прописи, то альбуминовые вещества вовсе не переходят в раствор. Прозрачный фильтрат не обнаруживает даже следов фиолетового окрашивания при кипячении с едким натром и медным купоросом. Полученный осадок остается совершенно бесцветным в условиях реакции Миллона. Нерастворившийся в холодном едком натре осадок, остающийся на фильтре в виде студенистой массы, содержит, помимо оставшегося нерастворенным нуклеина, заметные количества альбуминовых веществ. Он растворяется в теплой натриевой щелочи и затем при кипячении с медным купоросом дает великолепное интенсивное пурпурно-фиолетовое окрашивание. Он также отчасти растворяется в дымящей соляной кислоте. Если этот раствор разбавить большим количеством воды и отфильтровать, то при действии ферроцианата калия на фильтрат и последующей нейтрализации выпадает осадок, который дает отчетливую реакцию Миллона и ксантопротеиновую реакцию. Осадок вновь слабо подкисляют и исследуют под микроскопом, при этом удается различить еще много остатков головок сперматозоидов. Однако от толстых блестящих оболочек остаются лишь тонкие, покоробленные пленки, окружающие осветленное под действием кислоты внутреннее пространство.

Совокупность этих результатов с очевидностью подтверждает, что оболочки головок сперматозоидов не содержат белка и, помимо лецитина и т. д., состоят только из связанного с протамином нуклеина. Внутри головки, напротив, находятся истинные белковые тела. С этим, безуслов-

но, также связано и найденное ранее низкое содержание серы (0,2%).

Если осадок нуклеина оставить на несколько дней под абсолютным спиртом, то он становится нерастворимым. Теперь промыванием дистиллированной водой можно удалить соли. Повторное растворение и осаждение излишни, они лишь увеличивают опасность разложения. Вещество обезвоживают эфиром и спиртом и получают не содержащий солей препарат, который перед анализом высушивают при 105°, при этом он приобретает слабую коричневую окраску.

Необходимо отметить следующие свойства и реакции нуклеина. Нуклеин аморфен, бесцветен, незначительно растворим в воде; раствор мутнеет при действии кислот. Он способен легко растворяться в соде, солях аммония, Na_2HPO_4, однако после длительного стояния теряет эту способность. Нуклеин имеет четко выраженные кислотные свойства, он даже нейтрализует едкие щелочи, и до тех пор, пока еще остается нерастворенное вещество, его раствор в едком натре или аммиаке дает кислую реакцию. Если растворить его в дымящей соляной кислоте и сразу же разбавить большим количеством воды, то раствор мутнеет, однако спустя несколько минут после растворения муть при добавлении воды уже не образуется.

Как упоминалось, нуклеин совершенно не дает окрашивания ни в реакции Миллона, ни при действии медного купороса в щелочном растворе. Концентрированная азотная кислота не окрашивает нуклеин в желтый цвет, а растворяет с образованием бесцветного раствора. При нагревании он становится слабо-желтым, а после добавления аммиака приобретает более интенсивный коричнево-желтый цвет. Это нельзя назвать истинной ксантопротеиновой реакцией. Йод лишь медленно окрашивает нуклеин в светло-желтый цвет, однако окрашивание получается более или менее устойчивым.

Винный спирт вызывает помутнение аммиачного раствора нуклеина, лишь когда его содержание сильно превышает 50%. Разбавленный аммиачный раствор нуклеина (нейтральный или щелочной) не дает мути с хлоридом бария, хлоридом кальция и хлоридом магния. Напротив, в растворе нуклеина, содержащем приблизительно 40 об.% спирта, при добавлении указанных солей щелочноземельных металлов появляются белые хлопьевидные нерастворимые в аммиаке осадки — солеобразные соединения нуклеина с основаниями.

Сульфат меди осаждает из нейтрального раствора нуклеина, не содержащего спирта, зеленые не растворяющиеся в воде, но растворимые в аммиаке хлопья. Аналогично действуют хлористый цинк и нитрат серебра, причем последний вызывает выпадение осадка только из концентрированных растворов. Получающиеся соединения, по-видимому, устойчивы: после продолжительного промывания разбавленным спиртом соединение бария перестает терять барий, а из соединения меди вода не вымывает медь.

Можно снова соединить нуклеин с тем органическим основанием, с которым он был связан в семени. Растворенный в аммиаке нуклеин дает с раствором соли протамина не хлопьевидный, а тяжелый порошко-

образный осадок, нерастворимый в воде и избытке аммиака, но растворяющийся в связанных щелочах. Согласно результатам микроскопического анализа, этот осадок состоит исключительно из сильно преломляющих свет плотных шаров[10] или их агрегатов, часто неотличимых по внешнему виду от желточных зерен. В зависимости от концентрации раствора и прочих условий они имеют различные размеры — от неизмеримо малых до 40 μ и выше. Этот осадок набухает в 10%-ном растворе поваренной соли. При этом часто обнаруживаются весьма своеобразные явления: так, например, шары приобретают двойной контур, внутри бледнеющего внутреннего пространства выделяются более сильно преломляющие свет зерна и нередко возникает поразительное сходство с форменными элементами животного происхождения, например, с клеточными ядрами.

Таким образом, описанное вещество по своему отношению к воде, аммиаку, едкому натру, поваренной соли очень напоминает обсуждавшееся ранее вещество оболочки головки сперматозоида. Эти факты наряду с приводимыми ниже результатами анализов окончательно подтвердили правильность наших представлений относительно химической природы оболочки. Метод, которым получено это вещество, указывает также на то, что оно представляет собой солеобразное, а не эфироподобное соединение (нуклеиновокислый протамин).

Безусловно, примечательно упомянутое выше весьма странное для столь устойчивого вещества свойство набухать в растворах поваренной соли. Этот процесс является результатом химического превращения. Если оставить набухать в растворе соли хорошо промытую обезжиренную сперму, то имеющий нейтральную реакцию фильтрат, полученный после отделения комочков студня, будет содержать весьма заметное количество протамина, что подтверждается действием кровяной соли или хлорида платины. Нуклеин отсутствует вовсе или присутствует лишь в следовых количествах. При повторном добавлении NaCl в раствор переходит все большее количество протамина, однако оно всегда составляет лишь часть его общего количества. Если же вместо того, чтобы фильтровать, залить студень большим количеством воды и быстро взболтать, то комочки вновь собираются в непрозрачные хлопья: вода не содержит более следов протамина, а исходное вещество регенерирует. Мы имеем, следовательно, частичный обмен кислотами и основаниями между хлоридом натрия и нуклеопротамином. Этот обмен происходит при определенной граничной концентрации NaCl. Так как нуклеин, как будет показано ниже, представляет собой многоосновную кислоту, то возможно образование ряда новых соединений, которые содержат нуклеин, натрий и протамин в различных соотношениях и комбинациях и обладают различной способностью набухать. Этим, вероятно, объясняется упомянутая выше своеобразная морфологическая дифференцировка, видимая под микроскопом.

Нуклеин относится к числу весьма плохо диффундирующих веществ. В трех опытах с нейтральным нуклеин-аммонием через (немецкую) пер-

[10] Двойное лучепреломление, по крайней мере без гипсового клина, не наблюдалось. В крепком спирте через продолжительное время шары теряли воду и крошились.

гаментную бумагу различной толщины, легко пропускающую поваренную соль и протамин, в течение 12 ч в воду перешли лишь следовые количества нуклеина, так что в растворе протамина — наиболее чувствительном реагенте на нуклеин — только появилась видимая муть. За это же время через перикард не проникло практически нисколько вещества.

Были проведены анализы нуклеина и его соединений с барием и протамином.

I. 0,4748 г нуклеина дали 0,1699 г $Mg_2P_2O_7$ = 9,76% фосфора. 0,2919 г, прокаленные с натронной известью, насытили 2,66 мл нормальной серной кислоты = 12,76% N. 0,2708 г = 2,50 мл = 12,92% N. 0,1838 г дали 0,1646 г платины = 12,66% N.

II. 0,2595 г нуклеина дали 0,900 г $Mg_2P_2O_7$ = 9,68% P.

В обоих этих препаратах такое высокое содержание фосфора было получено только потому, что продукт промывали не водой, а разбавленным винным спиртом. Для всех анализов, приведенных выше, вещества получали в точности в соответствии с описанной методикой. Во всех случаях (I—VI) продукт растворяли и переосаждали дважды.

III. 0,2390 г нуклеина дали 0,0790 г $Mg_2P_2O_7$=9,23% P. 0,3116 г при сжигании с хромовокислым свинцом в присутствии меди дали 0,4175 г CO_2 и 0,1490 г воды = 36,54% углерода и 5,31% водорода.

IV. 0,2609 г нуклеина дали 0,0840 г $Mg_2P_2O_7$ = 8,99% P. 0,2956 г дали 0,4015 г CO_2 и 0,1420 г H_2O = 37,04% углерода и 5,34% водорода.

V. 0,2295 г нуклеина дали 0,0755 г $Mg_2P_2O_7$ = 9,19% P.

VI. 0,2525 г нуклеина дали 0,0820 г $Mg_2P_2O_7$ = 9,07% P.

Наконец, в следующих четырех случаях повторного растворения и высаживания не производили; работу проводили с максимально возможной быстротой в условиях зимнего холода. В промывных водах либо вовсе ничего не находили, либо в них были ничтожные следы фосфорсодержащих продуктов распада. В этих случаях мы, безусловно, получили истинный состав чистого нуклеина[11].

VII. 0,2697 г дали 0,0920 г $Mg_2P_2O_7$=9,53% P.

VIII. 0,2339 г дали 0,0800 г $Mg_2P_2O_7$ = 9,55% P. 0,2235 г дали 0,2960 г CO_2 и 0,1035 г H_2O = 36,15% углерода и 5,14% водорода.

IX. 0,2340 г дали 0,0810 г $Mg_2P_2O_7$ = 9,67% P.

X. 0,4159 г дали 0,1432 г $Mg_2P_2O_7$ = 9,61% P.

Из в точности нейтрального раствора нуклеин-аммония было затем осаждено хлоридом бария бариевое соединение нуклеина; оба вещества растворили в 45%-ном спирте, который использовали также для промывания осадка.

0,4073 г нуклеината бария дали 0,1058 г $BaSO_4$ и 0,1142 г

[11] Результаты большего числа многочисленных анализов совершенно чистого нуклеина, осуществить которые пока не удалось из-за недостатка времени, будут сообщены, как только это станет возможно. Приведенные результаты анализов II—X относятся к десяти полученным последовательно один за другим образцам. Не упомянут лишь один препарат из этой серии: его оставили на два дня в кислом спиртовом растворе, в результате чего произошло разложение (8,0% P).

$Mg_2P_2O_7$=14,7% бария и 7,83% Р. 0,2339 г дали 0,1935 г платины= =11,7%N.

В трех других препаратах, в которых также использовался полученный по правильной методике нуклеин, содержание бария было 13,00; 13,58 и 15,70%.

Чтобы получить предельно насыщенное бариевое соединение, нуклеин, растворенный в избытке аммиака, приливали по каплям к содержащему аммиак раствору хлорида бария. В обоих растворах было 45% спирта. Были приняты все возможные меры, чтобы предотвратить проникновение углекислого газа в раствор; присутствовавший тем не менее в следовых количествах углекислый газ улавливали после нагревания с соляной кислотой и учитывали в расчетах в виде углекислого бария. Содержащая 45% спирта промывная жидкость не извлекала из полученного соединения барий. Применялся нуклеин из препаратов VII—X.

I. 0,5505 г дали 0,2085 г $BaSO_4$=22,3% Ba.

II. 0,3646 г дали 0,1322 г $BaSO_4$=21,3% Ba.

III. 0,7105 г дали 0,2592 г $BaSO_4$=21,4% Ba.

Эти результаты приблизительно согласуются с предположением о том, что на 3 атома фосфора (нуклеин=9,6) приходится 4 эквивалента бария:

Рассчитано, %	Найдено, %		
	I	II	III
22,0	22,3	21,3	21,4

Таким образом, нуклеин представляет собой по крайней мере четырехосновную кислоту, при этом предположении найденный состав соответствует формуле [5*]



$$C_{29}H_{49}N_9P_3O_{22}.$$

	Рассчитано, %	Найдено, %
C_{29}	35,95	36,11
H_{49}	5,01	5,15
N_9	13,02	13,09 (среднее)
P_3	9,61	9,59 (среднее)
O_{22}	36,41	36,06
	100,00	100,00

Приведенные результаты анализов показывают, что мы имеем дело с весьма своеобразным веществом, даже если исключить содержащийся в нем фосфор. Если рассчитать состав соединения, из которого введением фосфорной кислоты можно было бы получить нуклеин, исходя из предположения, что на одну молекулу фосфорной кислоты приходятся две молекулы воды, то полученное содержание кислорода будет больше, а углерода и водорода — меньше, чем в белке, тогда как содержание азота окажется таким же, как в белке. Из изученных до сих пор веществ состав, аналогичный рассчитанному для «свободного от фосфора» нуклеина, имеют лишь анализированные Хюфнером[12] ферментные вещества,

[12] Untersuchungen über ungeformte Fermente. J. prackt. Ch., V, 372.

полученные глицериновым методом (%):

	Фибрин	Фермент поджелудочной железы	«Свободный от фосфора нуклеин»
C	52,6	46,57	44,56
H	7,0	7,17	6,00
N	17,4	14,95	16,12
O	21,8	30,36	33,32
S	1,2	0,95	—

В этих веществах, однако, содержится больше водорода и присутствует сера. Если бы можно было предполагать наличие генетической связи между обоими соединениями, то ферменты следовало бы считать промежуточным звеном между белком и нуклеином.

Многоосновность нуклеина обнаруживается также и в его поведении по отношению к протамину. Уже упомянутый выше порошкообразный осадок, выпадавший при взаимодействии нейтральных растворов нуклеината аммония и солянокислого протамина, содержал 5,96; 5,91 и 5,79% P (если он получался) при избытке протамина, 6,64% P при избытке нуклеина, 6,14%; 6,44% в случае, когда не было избытка ни того, ни другого: если осаждение проводили в избытке протамина из крепкого аммиачного раствора, то получались осадки с содержанием фосфора 3,75 и 4,42%, они не содержали связанного аммиака, но при промывании отчасти теряли протамин, чего обычно не случалось с такими препаратами. Тем не менее расчет содержания протамина на основании результатов определения фосфора был бы не вполне точен, так как содержание фосфора в нуклеине часто уменьшается в процессе получения (на 0,2–0,6%). В связи с этим будет также нелишним упомянуть, что использовались только лучшие препараты нуклеина (с 8,99–9,6% P), и отклонения в содержании фосфора при использовании одних и тех же растворов в различных количественных соотношениях обнаруживались многократно как в присутствии, так и в отсутствии избытка аммиака.

Сопоставление составов искусственного нуклеопротамина и обезжиренной спермы (5,45% P) показывает, что если не весь нуклеин, то бо́льшая его часть связана с органическим основанием. Однако, как показывают следующие многократно повторенные опыты, полного насыщения не происходит. Чистую свежую сперму из семявыносящего протока смешивали с нейтральным раствором солянокислого протамина. Семенные элементы сразу же образовали порошкообразный осадок, который обычно выпадает только при добавлении уксусной кислоты. Сами элементы стали, по-видимому, плотнее; в самом деле, их оболочки теперь преломляли свет еще сильнее. Протамин исчез из раствора; достаточно заметные количества его были поглощены спермой, так что ферроцианат калия уже не вызывал помутнения раствора. Раствор, первоначально дававший щелочную реакцию, уже после первой капли стал нейтральным, но не кислым, хотя после этого было поглощено еще более или менее значительное количество протамина. Можно поэтому предположить, что протамин отчасти занял место щелочного металла, а отчасти заместил еще свободный основной водород нуклеина спермы. Только эта последняя его часть оказывала влияние на реакцию жидкости.

Результаты относительно характера связи в нуклеине очень поучительны и могут служить замечательным примером при изучении общего вопроса о химической структуре тканеобразующих веществ. Таким образом, мы имеем дело с полифункциональным веществом, которое обладает определенной химической подвижностью даже не будучи растворено. Неорганические и органические основания могут присоединяться к нуклеину и отщепляться от него, замещать друг друга, их содержание может увеличиваться и уменьшаться; при этом, как показывает фильтрование, нет необходимости хотя бы частично переводить нуклеин в жидкое состояние. Различные функции имеют, по-видимому, неодинаковую степень основности, так что сродство нуклеина к щелочам может быть частично нейтрализовано уже в чистой воде. На примере замечательной способности нуклеопротамина разлагаться при действии поваренной соли, мы видели, как, казалось бы, нейтральное вещество в результате обмена составными частями оказывает глубокое воздействие на характер связи в нуклеопротамине. Таким образом, вполне можно утверждать, что любое изменение содержания солей, концентрации, щелочности раствора вызывает в тканеобразующих веществах, какими бы внешне устойчивыми они не казались, сдвиг химического равновесия в новое состояние.

Ближайшей аналогией этого странного поведения в области чисто химических превращений является взаимное разложение солей в растворах, на которое указывал еще Бертолле и которое было позднее убедительно подтверждено в наблюдениях над гидродиффузией. Вещества, способные к набуханию и впитыванию, сообщают растворенному состоянию одно из наиболее существенных свойств, обеспечивающих химическую подвижность; это связано с тем, что между их молекулами частицы воды и частицы растворенного вещества могут перемещаться настолько свободно, что их распределение здесь должно быть в равновесии — хотя и неполном — с распределением этих частиц в окружающей жидкости. Поэтому не будет неожиданностью, если выяснится, что и для других тканеобразующих веществ, представляющих собой солеобразные соединения того или иного типа, имеют место явления, сходные с наблюдаемыми для нуклеопротамина.

При всех описанных перегруппировках и превращениях веществ не остается неизменной и физическая структура. Каждая новая комбинация из нуклеина, протамина, щелочных и щелочноземельных металлов представляет собой вещество со своими особыми свойствами, своей особой способностью притягивать частицы воды (набухаемостью) и, возможно, также со своим собственным характерным расположением молекул. Хлорид кальция или хлорид бария вызывает уплотнение спермы, так как если кальций (или барий) встает на место тех основных водородов нуклеина, которые не замещены протамином, то получающееся вещество обладает меньшей набухаемостью, чем соединение, в котором эти водороды замещены щелочным металлом или не замещены вовсе. Это явление еще более ярко выражено у спермы карпа, в которой из-за недостатка протамина происходит значительно более глубокий обмен. Аммиак и углекислый натрий, напротив, вызывают набухание спермы лосося, так как образуется

основное вещество и в раствор ничего не переходит. Было бы интересно знать, не переходит ли при этом угольная кислота в откачиваемую форму (бикарбонат).

Воздействие кислот объяснить труднее. Известно, что при осаждении свежей спермы уксусной кислотой основную роль играет процесс извлечения щелочи. Однако и свободный от протамина и щелочей осадок спермы набухает в нейтральной воде и становится вновь более плотным при добавлении кислот. Растворенный в воде чистый нуклеин мутнеет при добавлении кислот. Быть может это связано с влиянием кислоты на образование гидрата?

Как легко заметить, при нынешнем положении дел опять-таки совершенно открытым остается один вопрос. Нельзя пока сказать, является ли содержимое оболочки головки сперматозоида в том виде, в каком оно находится в свежем секрете, химически индивидуальным веществом или оно состоит из нескольких различных комбинированных солей нуклеина. Первое было бы весьма возможно, если, например, на три эквивалента протамина приходился бы в точности один эквивалент щелочи; однако потвердить это трудно. Второе предположение представляется мне значительно более вероятным, так как любое изменение окружающей среды должно действовать в этом направлении.

Ряд исследователей уделили некоторое внимание тому влиянию, какое кислоты, щелочи и соли оказывают на движения семенных нитей. При этом много обсуждалось явление эндосмоса, изменение молекулярного притяжения и т. д. Только что изложенные наблюдения раскрывают тот путь, посредством которого самые различные, иногда на первый взгляд индифферентные вещества могут влиять на химическое и физическое состояние тканеобразователей, причем даже в тех случаях, когда под микроскопом мы не видим никаких изменений. И движение семенных телец, как и при любых других механизмах, безусловно, связано с определенными физическими константами их составных частей.

Здесь мы не можем подробно остановиться на продуктах разложения нуклеина, поскольку их исследование в настоящее время еще продолжается. Можно, однако, отметить, что весь фосфор нуклеина содержится в них в виде фосфорной кислоты.

0,2390 г очищенной от протамина спермы лосося дали после пятичасового кипячения с обратным холодильником в концентрированной соляной кислоте, насыщения аммиаком и добавления магнезиальной смеси к прозрачному раствору 0,0704 г $Mg_2P_2O_7$=8,23% P. Сжигание дало 8,20% P (см. с. 071).

При кипячении с окисью бария фосфор не переходит ни в глицеринофосфорную, ни в фосфорную кислоту; получается совершенно необычное фосфорсодержащее соединение бария. Нейрин также не образуется.

Весьма замечательна исключительная легкость, с которой растворенный или свежеосажденный нуклеин отщепляет фосфор. При этом получается богатый азотом остаток, а в растворе остается богатое фосфором вещество, которое осаждается основным уксуснокислым свинцом. Щелочи и кислоты вызывают его разложение, причем тем более быстрое, чем

выше их концентрация, разложение происходит даже при кипячении в воде. Переваривающая жидкость при продолжительном воздействии также вызывает отщепление фосфора, и вообще нуклеин ни в коей мере не является столь устойчивым по отношению к пепсину, как я предполагал ранее.

Именно эта легкость отщепления фосфора столь сильно затрудняет выделение нуклеина в чистом виде. Если, к примеру, вы получили хороший препарат, то стоит его оставить на ночь в кислом водном растворе спирта, как, к своему удивлению, обнаружите, что в нем стало 8% фосфора или еще меньше, при этом внешний вид, растворимость и т. д. остаются совершенно неизмененными. В начале исследований, когда мне еще не был известен источник ошибки, я получал образцы нуклеина с содержанием фосфора 3,8% и даже 2,6%. При этом полученные препараты, хотя и были часто заметно окрашены, тем не менее давали все реакции чистого нуклеина, не содержали серы, образовывали кальциевое и бариевое соединения, а также характерно оформленные осадки с протамином, которые во всех случаях были соответственно беднее фосфором. Одно из таких соединений, полученное в нейтральном растворе, содержало 3,35% P и 12% бария.

Эти опыты проливают некоторый свет на место фосфора в нуклеине. Кислые свойства, характер реакций, весь внешний облик не имеют никакого отношения к содержанию фосфора и должны определяться одной или несколькими CO—OH-группами. Вместе с тем та или иная основность фосфорной кислоты может оказывать здесь некоторое влияние. Однако наиболее важна иная роль фосфорной кислоты, предположительно связанной таким же образом, как и в сложных эфирах. Нуклеин не является спаренной фосфорной кислотой по типу глицеринофосфорной кислоты.

Количественный состав спермы лосося. При определении протамина в обезжиренной сперме путем осаждения хлоридом платины получено за вычетом платины и эквивалентного количества хлора в двух случаях 32,07 и 30,35% органического вещества. Расчет этой величины, исходя из различия в найденном процентном содержании фосфора, между образцами протаминсодержащей и свободной от протамина спермы (5,45 и 8,23% P), дал завышенное значение (34,5%), так как небольшое количество фосфора перешло в кислый раствор.

Получены следующие данные по составу чистых сперматозоидов из семявыносящего протока. На 100 частей органических веществ (%):

Нуклеина	48,68	Лецитина	7,47
Протамина	26,76	Холестерина	2,24
Белков	10,32	Жира	4,53

3. СПЕРМАТОЗОИДЫ КАРПА

Я провел несколько предварительных опытов со зрелым семенником карпа. При этом не предпринималось попыток отделить сперматозоиды. После обезжиривания горячим спиртом удается получить водный экстракт, что было ранее невозможно из-за высокой набухаемости. Вода из-

влекает фосфорнокислые соли щелочных металлов, а из органических веществ — лишь следовые количества нуклеина: все реакции на белок, пептон и органические основания дают отрицательный результат. Если затем провести экстракцию очень разбавленным раствором соляной кислоты, то фосфорная кислота в раствор не переходит, однако растворяются небольшие количества извести, которая, следовательно, была связана с органическим веществом (с нуклеином?). Кроме того, в кислый раствор переходят заметные количества вещества, которое не выпадает при нейтрализации, но дает реакции, характерные для белков: темно-красное окрашивание с реактивом Миллона, отчетливую ксантопротеиновую реакцию, пурпурно-фиолетовое окрашивание с солью меди и натриевой щелочью, белые хлопьевидные в некоторых случаях объемные осадки с ферроцианатом калия, хлоридом платины, фосфорномолибденовой кислотой, йодмеркуратом калия[13]. Эти реакции — а в них, как я полагаю, участвует одно и то же вещество — указывают на наличие пептоноподобного соединения с основными свойствами, которое выделяется в свободном виде из нерастворимого вещества при действии кислот. Осадок платинового соединения не содержал серы и фосфора. После исчерпывающей экстракции соляной кислотой вещество семенника содержало 4,82% фосфора и лишь очень небольшое количество серы. Ни в одном случае не было обнаружено протамина.

Такие же характерные для пептонов реакции давал кислый экстракт незрелого семенника лосося, в котором было еще много клеток-предшественников. Здесь также получались белые хлопьевидные осадки платиновых соединений, не содержащие фосфора и серы. Только что образовавшиеся, еще окруженные клетками семенные тельца имеют на этой стадии почти такую же набухаемость как и сперматозоиды карпа. Бесспорно, что сперма карпа имеет определенное сходство с незрелой спермой лосося. Правда, на результат могли повлиять и не вполне зрелые семенные элементы карпа, так как процесс созревания, начавшись в верхней части органа, распространяется по всему семеннику лишь в течение нескольких месяцев — с апреля до самой середины лета. Правда, приведенные результаты были получены в июле, в момент, соответствующий пику созревания.

4. СПЕРМА ЛЯГУШКИ

Исследование ряда почти зрелых, заполненных готовыми сперматозоидами семенников Rana esculenta и Rana temporaria дало следующие результаты: пепсин растворяет хвосты, но оставляет головки неизмененными. Многократно упоминавшиеся выше реакции не обнаруживают органических оснований в солянокислом экстракте обезжиренного вещества. После полной экстракции кислотой в веществе при сжигании находят значительное количество фосфора.

---

[13] Во всех случаях, где речь идет о ферроцианате калия, фосфорномолибденовой кислоте и йодмеркурате калия, эти реагенты применялись в кислом растворе.

5. СПЕРМАТОЗОИДЫ БЫКА

Я получил возможность подробно исследовать сперму млекопитающего прежде всего благодаря постоянной дружеской поддержке, которую в интересах науки с готовностью оказывал мне ветеринарный врач Б. Зигмунд, управляющий местной бойни. Только при его помощи мне удалось получить довольно много материала, необходимого для подобных исследований.

Для выделения семенных клеток в данном случае использовался следующий метод: препарируют свежий придаток семенника быка и очищают его от видимых на глаз кровеносных сосудов. Затем бритвой разрезают орган на тонкие ломти, переносят их на тюлевое сито и по возможности быстро, избегая сильного напора, вымывают небольшим количеством дистиллированной воды секрет из каналов. Полученная жидкость молочного вида содержит наряду со сперматозоидами другие форменные элементы лишь в том случае, если органы не вполне свежие, уже набухшие, с рыхлым эпителием. Наиболее чистый продукт получается при взятии хвостовых отделов придатка. Полностью выделить семенные клетки непосредственно фильтрованием мне никогда не удавалось. Если же добавить несколько капель уксусной кислоты, то суспендированные форменные элементы собираются, образуя как бы порошок, который медленно осаждается и может быть отделен фильтрованием через тонкопористую бумагу при помощи бунзеновского насоса. После повторного размельчения в воде и фильтрования сперматозоиды окончательно освобождаются от жидкости. Уксусную кислоту в этом случае нельзя заменять ни разбавленной соляной, ни хлоридом кальция или бария.

В отфильтрованной жидкости находится более или менее значительное количество сывороточного белка, свертывающегося при кипячении[14]. Хотя при добавлении аммиака мути не образуется, при действии щавелевой кислоты выпадает небольшое количество кальция, а магнезиальная смесь осаждает более или менее значительное количество фосфорной кислоты. Некоторое количество суспензионной жидкости можно получить и, не добавляя уксусной кислоты прямым фильтрованием, до того времени, пока фильтр не забьется, или взбалтыванием с эфиром; в последнем случае спустя некоторое время форменные элементы собираются в слое жидкости на границе между эфиром и водой. В полученной таким образом жидкости, помимо упомянутых выше компонентов, можно обнаружить также следы щелочного альбумината, которые дают осадок с уксусной кислотой лишь в сильнокислом растворе (из-за наличия фосфорнокислых солей) и растворяются в 0,1%-ной HCl. Альбуминат соосаждается с семенными клетками при использовании описанного выше метода их выделения, но в благоприятных случаях его бывает настолько мало, что аморфные частицы едва удается обнаружить между сперматозоидами при точном микроскопическом исследовании.

Я во всех случаях находил, что чистая, вытекающая из каналов сперма

---

[14] Коагулят переваривается без остатка и, следовательно, не содержит нуклеоальбумина.

имеет отчетливо кислую реакцию [15], причем даже тогда, когда исследование проводили через 2—10 мин после смерти животного. Подобные исследования проводились частью г-ном Зигмундом, частью мной самим при его помощи. Собственно вещество железы нередко давало еще щелочную реакцию. Однако оно часто вызывало посинение уже упоминавшегося обесцвеченного соляной кислотой водного раствора цианина, и притом не за счет форменных элементов, а за счет жидкости. Это объясняется тем известным фактом, что белящее действие различных кислот не в точности обратно пропорционально их эквивалентному весу; при использовании более слабых, в особенности органических, кислот требуется более высокая кислотность, чем при использовании сильных минеральных кислот.

Многие исследователи уже обращались к микроскопическому изучению бычьих сперматозоидов. Что касается внешней формы, то мне остается, собственно, лишь немного добавить к тому точному описанию, которое дал Кёлликер. Головка этих семенных клеток представляет собой тонкую, почти совершенно плоскую пластинку, которая в продольном разрезе напоминает сливу, но с более равномерным сужением и закругленными краями. Ее длина составляет приблизительно 9,5 μ, наибольшая ширина 4,5 μ, толщина едва превышает 1 μ. Из небольшого углубления в пластинке головки выходит исключительно четко выделяющаяся нить, похожая на стебелек плода и имеющая очень короткий начальный участок, более слабо преломляющий свет.

Прежде всего возникает вопрос, имеют ли головки бычьих сперматозоидов, так же как и головки сперматозоидов костистых рыб, внутреннюю структуру. В литературе достаточно работ, посвященных этому вопросу, хотя они и не содержат убедительных данных. Наиболее определенно высказывается Гроэ [16], который хотел с помощью анилинового окрашивания семенных элементов лягушки и различных млекопитающих найти «контрактильную» внутреннюю массу, которая должна продолжаться в нити. Высказывания Швайгер-Зайделя [17] на эту тему скорее напоминают туманные предположения, нежели доказанные утверждения. Кёлликер, напротив, до последнего времени (1867) твердо придерживался того мнения, что именно у млекопитающих головки сперматозоидов имеют гомогенную структуру.

Из только что сказанного относительно правильной пластинчатой формы вытекает, что в действительности здесь мы имеем дело с очень неудобным объектом для изучения деталей внутреннего строения. То, что мы можем ожидать увидеть внутри головки — один или несколько очень тонких слоев или структур, иначе преломляющих свет, чем оболочка,— легко может полностью исчезнуть из поля зрения из-за самых незначительных воздействий на ход лучей и силу преломляющего света. В головке нет таких

[15] Лонже оставлял сперму в контакте с маслом в теплом месте и без контрольных опытов на основании появления кислой реакции делал вывод о действии фермента (Ann. de sci. natur., IV Ser., 3, p. 15).

[16] Ueber die Bewegungen der Samenkörper.— Virch. Arch., 1865, XXXII, S. 419 [и далее].

[17] Ueber die Samenkörperchen und ihre Entwickelung.— Arch. f. mikr. Anat., I, 328.

сильно закругленных граничных слоев, как в сперме лосося, которые действуют подобно линзам и позволяют различать внутреннюю структуру [18].

Тем не менее я пришел к твердому убеждению, что и здесь имеется сложная структура. Без добавления реагентов на видимой поверхности вначале не удается обнаружить ничего, кроме каемки — светлой при более слабой и темной при более глубокой фокусировке. После непродолжительного действия очень разбавленной соляной кислоты (0,1%-ный раствор) эта каемка становится не только более четкой, но и приобретает резкий контур, отделяющий ее от внутреннего объема. Каемку и контур можно наблюдать по всему периметру пластинки, однако наиболее четко они видны в более узкой части, у того места, где прикрепляется хвост. Эта картина не связана с центральным углублением, как в случае кровяных телец; об этом с определенностью свидетельствуют продольный и поперечный оптические размеры, а также то обстоятельство, что ширина каемки не меняется, и при перемещении тубуса вверх и вниз внутренний контур остается на месте. Эти явления не находят объяснения, если не предположить существования более или менее толстой, более сильно преломляющей свет [19] оболочки, окружающей плоскую, возможно, очень тонкую прокладку из химически и оптически отличного вещества. Этот более слабо преломляющий свет внутренний слой имеет наибольшую толщину около узкого (хвостового) конца и становится все более тонким по мере приближения к широкому концу.

Некоторые исследователи, описывая сперматозоиды ряда млекопитающих, упоминали о темной полоске, которая тянется через середину пластинки головки. Такая полоска в виде размытой тени, которая не пронизывает внутренний контур оболочки, а направляется к одной из свободных поверхностей, имеется и в сперматозоиде быка, причем она видна наиболее четко при такой же, а не при более слабой или более глубокой фокусировке, при которой виден внутренний контур оболочки. Дело, следовательно, в различном соотношении внутренних частей: возможно, это область, в которой внутренний слой резко сужается и соответственно утолщается оболочка.

Из других реагентов отчетливые картины при продолжительном воздействии часто дают хлорид золота или осмиевая кислота (0,5%); иногда особенно резко выделяется внутренний контур. Однако особых преимуществ перед соляной кислотой, таких, как окрашивание и т. д., их использование не дает.

Сходство структур бычьего сперматозоида и описанного сперматозоида лосося на этом не заканчивается. После воздействия только что упомянутых реагентов, можно заметить у места прикрепления хвоста тонкую темную линию, которая пронизывает оболочку и представляет собой отражение микропора, заполненного более слабо преломляющим свет веще-

[18] *Welcker.* Beiträge zur Mikrographie.— Ztschr. rat. Med. Neue Folge, 1857, VIII, 225.

[19] Гроэ пишет о более слабо преломляющей свет мембране; Швайгер-Зайдель категорически отвергает представление о светлой каемке как отражении оболочки. Вполне вероятно, что то, что они называют оболочкой, не имеет никакого отношения к тому явлению, которое описываю я.

ством; посредством микропора внутренняя часть головки сообщается с хвостом. Однако диаметр отверстия слишком мал, чтобы в него мог проникнуть весь хвост, не сужаясь. Значительно сложнее различить структуры, соответствующие описанному выше центральному тельцу в сперматозоиде лосося. После обработки уже упомянутым способом или после очень непродолжительного воздействия сильно разбавленных углекислых или едких щелочей среди семенных элементов нередко можно встретить такие, в которых при достаточно глубокой фокусировке в светлом внутреннем пространстве видна неяркая темная полоска, узкая там, где она начинается у микропора, затем резко расширяющаяся, хотя и не заполняющая все внутреннее пространство и наконец постепенно теряющая четкость в центре головки (лучше всего использовать объектив 8, окуляр 4 при косом освещении и задержке всего падающего света). Какими бы неполными и малонадежными ни казались эти наблюдения, они тем не менее недвусмысленно свидетельствуют о наличии особой плоской внутренней структуры, в которой на глаз легче всего обнаружить более толстую и более тонкую части. Я не сомневаюсь, что среди сперматозоидов млекопитающих найдутся некоторые объекты, значительно более благоприятные для исследования, чем тот, который описывается здесь. К таким объектам относятся, например, более толстые, не совсем плоские сперматозоиды собаки, в которых, как я убедился, можно без особых трудностей обнаружить все упомянутые выше структурные компоненты.

Среди реагентов, использовавшихся для просветления внутренней структуры бычьего сперматозоида, до сих пор не упоминался цианин, который оказался столь полезным при изучении спермы лосося. Действительно, в данном случае не наблюдается синего окрашивания при добавлении бесцветной, содержащей HCl цианиновой воды. Если, однако, в пробирке быстро обработать неразбавленную сперму 0,01—0,05%-ным раствором едкого кали и к нанесенной на предметное стекло капельке смеси добавить обесцвеченную цианиновую воду, то головки и хвосты приобретают более или менее интенсивную синюю окраску. Головки окрашиваются неравномерно. В начале воздействия часто бросается в глаза, что окрашивается преимущественно центральное поле, соответствующее внутреннему пространству, и оно оказывается, таким образом, резко отделенным от почти бесцветной каемки. Позже различие смазывается в результате диффузии. Со спермой, разбавленной водой, эта реакция не удается. Голубая, нейтральная или слабощелочная цианиновая вода не вызывает столь яркого окрашивания; свободный цианин сам по себе впитывается с трудом. По-видимому, растворимые легко диффундирующие вещества энергично поглощают щелочь, и образующееся соединение вновь разрушается соляной кислотой, содержащейся в цианиновой воде. Вряд ли можно сомневаться в том, что здесь выделяется в свободном состоянии более слабая кислота, не способная обесцвечивать цианин, который обесцвечивался эквивалентным количеством соляной кислоты.

Этот факт, безусловно, связан с открытым Кёлликером своеобразным действием щелочей, активизирующих движение семенных клеток; еще Энгельман в качестве наиболее вероятной причины этого явления предпо-

лагал наличие кислоты, препятствующей движению клеток. Эта кислота не обнаруживалась в сперме лосося, так как толстая оболочка его сперматозоида обеспечивала сохранение относительно богатого запаса щелочи. Попутно мы имеем здесь первое указание на обмен веществ в сперматозоидах и его роль, так как трудно представить себе, что кислота могла образоваться в каком-либо ином месте, по крайней мере в тех опытах, когда кислая реакция была найдена сразу после забоя животного, в то время как и собственно вещество семенника и эпителий его придатка дают щелочную реакцию и в противоположность сперматозоидам сразу же образуют с бесцветным раствором цианина интенсивное голубое окрашивание [20].

Что касается химического состава бычьих сперматозоидов, то до сих пор более или менее изучены лишь те вещества, которые растворяются в эфире. Приведенные Фрерихсом и Трескином [21] данные о химическом составе всего семенника млекопитающего, как явствует из анатомии органа, ничего не говорят о составе собственно сперматозоида. Давно известное образование миелиновых фигур при гниении спермы позволяет предположить наличие лецитина, который, согласно данным Трескина, наряду с холестерином и обычным жиром встречается в веществе семенника в изрядном количестве. Кёлликер [22] определил процент экстрагируемых эфиром веществ в сперматозоидах из придатка семенника — на 100 частей твердого вещества он получил 12,07 части экстракта.

Если отделить сперматозоиды и провести их полную экстракцию горячим спиртом, то после упаривания остается вязкий, тягучий, полумаслянистый продукт, который полностью растворяется в холодном эфире и, следовательно, не содержит церебрина. Такой эфирный экстракт содержит 4,54% P_2O_5, что соответствует 51,6% лецитина.

Основные вещества, из которых состоят бычьи сперматозоиды, относятся, как известно, к наиболее резистентным тканевым веществам, и если еще хвосты бледнеют и медленно растворяются в холодной калиевой щелочи, то головки разлагаются лишь теплыми растворами связанных щелочей. Нагревание не содержащих жира, выделенных при помощи уксусной кислоты семенных клеток приводит к их обугливанию. Уголь при смачивании дает кислую реакцию и, помимо фосфорной кислоты, в нем обнаруживаются лишь не поддающиеся точному определению следовые количества извести и кремниевой кислоты.

I. 0,5795 г высушенных при 105° семенных клеток дали при сжигании с содой и селитрой 0,0505 г $BaSO_4$ и 0,0490 г $Mg_2P_2O_7$=1,18% серы и 2,36% фосфора; 0,5640 г этого же вещества дали 0,0478 г $BaSO_4$=1,16% серы.

II. 0,4552 г семенных клеток другого животного дали 0,0370 г $Mg_2P_2O_7$= 2,27% фосфора.

Порцию свежих и, согласно микроскопическому исследованию, очень

[20] Я предполагаю опубликовать специальное сообщение о предосторожностях, которые необходимы, чтобы избежать ошибок при применении цианина и объяснении результатов.
[21] Pflüger's Arch. V, 122.
[22] loco citato, S. 256.

чисто выделенных семенных клеток тонко дробили путем встряхивания, обрабатывали большим количеством 0,1%-ной HCl и спустя несколько часов отфильтровывали. Нерастворившийся остаток после обезжиривания и высушивания весил 0,6753 г, содержал 2,69% фосфора. При отделении осадка от фильтра отмечались незначительные потери, однако они не превышали 5%. Из прозрачного фильтрата после нейтрализации получили 0,0495 г сухого преципитата, который давал все реакции истинного белка. Этот легко экстрагируемый белок (глобулин или альбуминат калия) в количестве 7,3% в расчете на обезжиренное вещество имеет значительно большее значение, чем то, которое можно было бы придать едва заметным под микроскопом следам альбумината из сыворотки спермы. Этот белок, скорее всего, содержится в головках[23], центральное поле которых становится заметно светлее. Возможно также, что некоторые количества белка содержатся и в хвостах, которые набухают лишь незначительно, но преломляют свет явно слабее, чем до экстракции.

Несколько порций обезжиренных семенных клеток экстрагировали разбавленной соляной кислотой. Эти экстракты с кровяной солью, хлоридом платины, йодмеркуратом калия, фосфорномолибденовой кислотой либо вовсе не давали помутнения, либо давали помутнение, сходное с тем, которое дает белок, однако в очень небольшом количестве. В данном случае, следовательно, не только отсутствует протамин, но и нет никаких других заменяющих его органических оснований.

Дальнейшее разложение семенных клеток может быть осуществлено при помощи пепсина[6*]. Как правило, головки удается полностью выделить путем продолжительного воздействия, по крайней мере в течение 6—10 ч, искусственного желудочного сока. Тонкие крошащиеся ниточки — остатки хвостов — долго не поддаются растворению, но в конечном счете переходят в раствор. Создается впечатление, что хвост состоит из нескольких веществ с различной резистентностью. Если общее время переваривания не слишком сильно превышает время, необходимое для растворения хвостов, то выделенные этим способом головки очень хорошо сохраняют свою форму. Они имеют гладкий, непокоробленный внешний контур: часто четко виден внутренний контур оболочки и микропор. Вообще оболочка представляется наиболее резистентной структурой. Многократным декантированием и промыванием на фильтре можно получить белую блестящую как шелк массу, которая дает отчетливую реакцию Миллона и ксантопротеиновую реакцию и не растворяется полностью ни в аммиаке, ни в кипящей соде, ни в горячей концентрированной соляной кислоте. Жидкость, образующаяся при кипячении с содой, вызывает почернение металлического серебра.

I. 0,1894 г тщательно отделенных высушенных головок дали при сжигании с содой и селитрой 0,0330 г $Mg_2P_2O_7$=4,81% фосфора.

---

[23] Белок, который 0,1%-ной HCl экстрагируется из спермы лосося, происходит из шейки и хвоста, так как протамин, находящийся в оболочке, препятствует воздействию кислоты на внутреннее содержимое сперматозоида.

II. 0,3025 г очень тщательно отделенных свежевыделенных головок дали 0,0505 г $Mg_2P_2O_7$=4,66% фосфора и 0,0392 г $BaSO_4$=1,78% серы.

III. 0,3063 г головок, полученных в третий раз, дали 0,0380 г $BaSO_4$=1,70% серы.

Сравнение этих результатов с результатами анализов неизмененных семенных клеток показывает, что части, которые подверглись перевариванию, т. е. главным образом хвост, по существу, не должны содержать фосфора. Различие в содержании фосфора до и после переваривания настолько велико, что весьма вероятно также, что в раствор перешло некоторое количество не содержащего фосфор вещества и из самой головки, поскольку вес хвоста вряд ли может составить половину веса всего сперматозоида. Судя по гистохимическим данным, я могу предположить наличие таких перевариваемых веществ внутри головки. Даже само фосфорсодержащее вещество не остается при переваривании совершенно не затронутым. В переваривающую жидкость переходит заметное количество фосфорной кислоты, которое осаждается магнезией лишь после сжигания. По моим наблюдениям, медленно разлагаются под действием желудочного сока также и нуклеиновые вещества, выделенные из гноя, куриного яйца и спермы лосося.

Различие в содержании серы (3 : 2) меньше, чем различие в содержании фосфора (2:1). Переваренное вещество, следовательно, хотя и содержит в среднем меньше серы, чем вся клетка в целом, все же не вполне свободно от нее (приблизительно 0,6% серы).

Для извлечения фосфорсодержащего вещества очищенный, взвешенный в воде остаток, полученный при переваривании, нагревают до ~80°, добавляют небольшое количество натриевой щелочи и оставляют на несколько минут до тех пор, пока раствор не становится совершенно прозрачным. Фильтрования следует по возможности избегать. Полученный светло-желтый раствор быстро охлаждают и небольшим избытком соляной кислоты осаждают нуклеин, который очищают, насколько это возможно, повторным растворением и осаждением, а также промыванием и декантированием вначале содержащей соляную кислоту, а затем дистиллированной водой. Получившаяся почти или совершенно бесцветная, чаще всего плотная хлопьевидная масса отличается от описанного ранее нуклеина лосося уже тем, что ее можно осаждать и промывать без добавления спирта, поскольку она не набухает в чистой воде. Обычно она осаждается со следовыми количествами белка. В самом удачном случае (анализ I) реактив Миллона давал лишь совсем слабое розовое окрашивание, в других случаях окраска была интенсивнее. В остальном обнаруживается замечательное совпадение реакций нуклеина быка и нуклеина лосося. Свежеосажденный нуклеин быка легко растворяется в растворе соды и аммиаке, однако при стоянии он быстро переходит в труднорастворимую форму. Аммиачный раствор дает осадки с хлоридом бария, хлоридом кальция и магнезиальной смесью без добавления спирта; в то же время с растворами аммиачного серебра и меди осадков не образуется. Большие потери (в одном случае $^4/_5$ всего количества) нуклеина, которые имеют место при его получении и очистке, свидетельствуют о том, сколь легко разлагается это

вещество. Сам процесс получения, по-видимому, сопровождается химическим превращением из нерастворимой модификации (ангидрид?) в растворимую (гидратация?).

Я приведу более подробно анализ самого удачного препарата, который был получен в виде бесцветного осадка из совершенно чистых головок (см. выше анализ II).

0,1622 г нуклеина дали 0,1882 г платины = 16,40% азота; 0,2630 г того же вещества дали (при сжигании) с содой и селитрой 0,0677 г $Mg_2P_2O_7$ = 7,19% фосфора.

Два других, очевидно, более сильно разложившихся слабоокрашенных препарата дали 5,707% фосфора = 17,80% азота и 5,38% фосфора. В этом результате нет ничего необычного, если учесть склонность нуклеина к разложению. Нет также гарантии того, что не занижено и максимально найденное содержание фосфора. Во всяком случае, после 24-часового сплавления с хлоридом бария не было обнаружено и следов серы.

При получении продукта (анализированного в опыте I) обработке подвергали исключительно чистые изолированные головки, после осаждения нуклеина кислый фильтрат точно нейтрализовали. При этом выпадал более или менее обильный осадок (приблизительно $^1/_3$ полученного нуклеина), который давал реакции истинного белкового тела, в особенности интенсивное красное окрашивание при действии реактива Миллона.

0,1410 г этого осадка, высушенного при 105°, дали 0,0130 г $BaSO_4$ = = 1,26% серы и 0,0090 г $Mg_2P_2O_7$ = 1,78% фосфора.

Предстоит более подробно исследовать вопрос о том, содержится ли фосфор в этом белковом теле (нуклеоальбумине?) или присутствие фосфора объясняется загрязнением продуктами распада нуклеина.

Во всяком случае, головка бычьего сперматозоида состоит по крайней мере из трех веществ.

1. Нуклеин, не содержащий серы, составляющий предположительно от $^1/_3$ до $^2/_3$ всей массы, в нерастворимой модификации.

2. Белок (свободный или в виде фосфорсодержащего соединения).

3. Очень богатое серое вещество, пока еще не выделенное, содержащее, во всяком случае, не менее 4% серы, с которым должно быть связано высокое содержание серы.

Оболочка, без сомнения, образована из нуклеина уже хотя бы потому, что нуклеин представляет собой преобладающий по массе компонент. Бедный серой альбуминат № 2 происходит, вероятнее всего, из содержимого головки, которое, подобно белковой протоплазме, светлеет под действием кислот. О богатом серой веществе можно пока сказать лишь очень немного [24]. Оно разлагается при получении. Можно было бы предположить, что из этого вещества состоит центральное тельце, однако вполне вероятно, что первоначально оно было связано с нуклеином, но в процессе получения связь разорвалась. Это вещество не может быть просто сер-

[24] В сперматозоидах лосося содержание серы (1,70%), рассчитанное для найденного количества белка (10%), возможно, занижено, так как указанное содержание белка, вероятно, несколько выше, чем на самом деле. Поэтому и здесь можно предполагать наличие более богатого серой вещества.

нистой щелочью, так как при подкислении раствора нуклеина лишь изредка появляется очень слабый запах сероводорода.

Сейчас можно считать твердо установленным, что хвост семенной клетки не содержит фосфора и имеет, следовательно, совершенно иной химический состав, чем оболочка головки. Скорее можно думать о сходстве находящегося в хвосте вещества с внутренним содержимым головки, так как оба эти вещества относятся к белкам. По своему отношению к различным реагентам наиболее устойчивая основная составная часть хвоста очень похожа на вещество пористой капсулы яйцеклетки лосося, которое, безусловно, представляет собой результат превращения клеточной протоплазмы (зона зачатковой яйцеклетки) (Гис).

Вещество пористой капсулы устойчиво по отношению к продолжительному воздействию 2%-ной калиевой щелочи; при таком воздействии оно становится прозрачным. Это вещество постепенно растворяется в теплых щелочах, а также в искусственном желудочном соке при 40°, однако в последнем растворение с образованием не содержащего сахара раствора пептона происходит лишь после очень продолжительного воздействия. После обработки 2%-ным едким кали для удаления вителлина вещество пористой капсулы дает отчетливую ксантопротеиновую реакцию и приобретает темно-красное окрашивание под действием реактива Миллона. При нейтрализации раствора этого вещества в теплой калиевой щелочи выпадает обильный осадок альбумината. Содержание серы составляет 0,76%. Имеются лишь следовые количества фосфора, происходящего, вероятно, из прилипших зерен желтка, видимых под микроскопом. Вещество это, следовательно, очень трудно растворимая модификация белка.

Предполагаемое (см. выше) содержание серы (0,6%) в веществе хвоста полностью оправдывает такое предположение. Подобные нерастворимые модификации белка, напоминающие коагулированные белковые вещества, по-видимому, время от времени встречаются в клетках (ср., например[25]). Однако оба обсуждаемых нами вещества устойчивее и представляют собой, как кажется, продукты еще более глубоких преобразований протоплазмы.

Контакт между внутренним содержимым головки и хвостом осуществлялся через микропор, а также, по-видимому, через отросток центральной структуры, что особенно хорошо видно в сперматозоиде лосося. И если теперь твердо установлено, что основная масса вещества хвоста имеет протоплазматическое происхождение, то нельзя полностью отрицать возможность того, что это вещество только на соседнем участке образует лишь обкладку вокруг центральной нити, выходящей из внутреннего пространства головки. Таким образом, ни в коей мере не опровергаются точные данные Кёлликера[26] относительно развития бычьих сперматозоидов.

Что касается различия между шейкой и хвостом, то здесь я не хочу

[25] *Plosz.* Die eiweissartigen Substanzen der Leberzelle.— Pflüger's Arch., VII, 371.
[26] loco citato, S. 265.

оспаривать данных Швайгер-Зайделя. Различия в физической структуре, плотности, способности впитывать вещества и т. д. могут также касаться и различных участков хвоста. Однако глубоких, химических различий между шейкой и хвостовой нитью мне до сих пор обнаружить не удалось. В частности, и шейка, и хвост ведут себя одинаково по отношению к пепсину; даже короткий, слабо преломляющий свет начальный участок хвоста столь же устойчив, как и остальные его области, поэтому отделить головку от хвоста при помощи этого реагента весьма непросто.

Теперь, после того как я изложил данные химических исследований, мне остается лишь выполнить приятную обязанность и выразить искреннюю благодарность своему другу и коллеге проф. Пикару[7*] за любезное разрешение воспользоваться помещением и оборудованием местной химической лаборатории в первой половине моего исследования, а также за ценную поддержку, которую он оказывал мне советом и делом. Я также глубоко признателен г-ну ассистенту X. Хагенбуху за постоянное внимание и помощь.

6. ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Я не могу закончить это сообщение, не коснувшись в нескольких словах вопроса о том, как результаты химического изучения сперматозоидов могут соотноситься со специальными функциями последних. Некоторым это может показаться преждевременным. У меня также складывается впечатление, что, прежде чем мы сможем высказать что-либо определенное о той физиологической роли, которую играют отдельные обнаруженные нами детали, нам еще придется рассмотреть большой и разнообразный экспериментальный материал, касающийся как химии, так и морфологии сперматозоидов. Сделать первый шаг в этом направлении, возможно, позволят дальнейшие исследования, которые должны быть проведены на сперматозоидах самых разнообразных классов животных. Из множества второстепенных моментов необходимо будет в конечном счете вычленить общие коренные черты, которые отражают основные принципы процесса оплодотворения. Тем не менее я полагаю, что будет не лишним сделать несколько замечаний относительно значения результатов, полученных до сих пор.

По вопросу о том, на чем основано действие спермы, с самых давних времен одну за другой с большей или меньшей решительностью предлагали все мыслимые гипотезы. В последнее время, если судить по тем скудным замечаниям, которые имеются у ряда авторов, многие склоняются к представлению, что сперматозоиды являются носителями особых веществ, которые осуществляют оплодотворение благодаря своим химическим свойствам. В одном учебнике физиологической химии[27] предлагается тщательно исследовать сперматозоиды на предмет наличия ферментов. Для такого исследования чрезвычайно важно иметь свежий чистый материал, например препараты спермы лосося, которая не потеряла бы никаких сущест-

[27] *Kühne.* Physiologische Chemie. S. 558.

венных компонентов в процессе подготовительных операций по ее выделению. Однако в чистой сперме лосося вовсе не обнаруживается растворимого в воде вещества, которое осаждалось бы спиртом, танином или одной из употребительных металлических солей (основным уксуснокислым свинцом, йодмеркуратом калия и т. д.) и имело бы сходство с каким-либо из известных до настоящего времени ферментов. Вообще в воду переходят лишь следовые количества органического вещества. Основная масса состоит из очень устойчивого вещества, образующего плотную трудно проницаемую оболочку, в которую заключено почти все остальное содержимое семени.

Животные и растительные ткани, в которых активно происходят процессы обмена (проростки семян и т. п.), часто дают реакции с озоном. Сперматозоиды лосося и быка не дают синего окрашивания ни в чистой, ни в содержащей H_2O_2 гвайяковой настойке, они вызывают лишь медленное разложение перекиси водорода. Их гниение протекает медленнее, чем гниение других клеток. Один раз я наблюдал на бычьих сперматозоидах диастазное действие, однако в других случаях оно не отмечалось. Этому единственному случаю, учитывая широкую распространенность диастазы, также не следует придавать значения. Конечно, имеющиеся или отсутствующие аналогии с известными ферментами дают не слишком большой материал для выводов. Так, спиртовой фермент дрожжей также не экстрагируется водой. Мы не можем также предполагать, что в нескольких известных переваривающих жидкостях мы уже сейчас имеем примеры всех тех странных нарушений химического равновесия, которые могут наблюдаться при взаимодействии компонентов организованных биологических систем.

Было бы однако весьма полезно, если бы удалось обнаружить такой специфический фермент спермы, который благодаря своему химическому сродству был бы приспособлен для того, чтобы вызывать серьезные изменения какого-либо вещества яйцеклетки. На сегодняшний день можно считать твердо установленным также и в отношении ферментов, что силы химического притяжения действуют лишь на бесконечно малых расстояниях. Однако столь тесное соприкосновение каждой молекулы зародышевой протоплазмы с нерастворимым ферментом может осуществляться подобно тому, как это имеет место между дрожжевой клеткой и сахаром. Не меньшими были бы сложности при отсутствии активного тока и для фермента, перешедшего в растворимую форму, возможно, под действием вещества яйцеклетки. Оплодотворение было бы в этом случае объяснимо лишь для одного пункта, для понимания остальных процессов в зародыше нам понадобилось бы столько же вспомогательных допущений, сколько и в случае исключения фермента из нашего рассмотрения.

Если вообще можно предположить, что одно-единственное вещество, будь то фермент или какой-либо иной химический раздражитель, обусловливает процесс оплодотворения, то, несомненно, прежде всего следовало бы подумать о нуклеине. Нуклеиновые тела как основной компонент были обнаружены во всех случаях. Будучи составной частью оболочки головки, они первыми окажутся в контакте с подлежащей оплодотворению массой,

тогда как остальное содержимое будет отделено от нее, как и от окружающей среды, плотной капсулой, как, например, у рыб.

В самом яйце, в желточных зернах, как известно, уже содержится значительное количество нуклеиновых веществ. Часть их, возможно, заключена в желточных клетках, другая часть, однако, наверняка находится в непосредственном контакте с зародышевой протоплазмой. Нет никаких оснований считать, что нуклеиновые вещества сперматозоидов обладают какими-то особыми свойствами, отличными от свойств нуклеинов яйцеклетки. Своеобразная способность набухать в воде была обнаружена как у желточных шаров, так и у семенных телец карпа; подобными свойствами не обладают половые продукты лосося и млекопитающих. Каким образом добавление минимального количества вещества, уже и без того имеющегося в изобилии, может решающим образом сказаться на всех процессах, протекающих в яйцеклетке? Сказанное относится и к лецитину, белку, холестерину; все они присутствуют в яйце. С другой стороны, при исследовании остальных сперматозоидов животных вовсе не было обнаружено аналогов протамина, поэтому вряд ли можно видеть в нем вещество, имеющее решающее значение.

В самом деле, загадка оплодотворения кроется не в каком-то определенном веществе; это можно утверждать уже сейчас с большой степенью достоверности. Конечный эффект обусловлен не какой-либо одной частью, а всей клеткой в целом, совместным действием всех ее частей. Постоянство состава сперматозоидов лосося показывает, насколько точно сохраняется соотношение отдельных компонентов [8*].

Еще более четко, нежели все химические анализы, о действии законов оплодотворения говорит повседневно наблюдаемое наследование потомками родительских признаков.

Если представлять себе сперматозоид лишь как носитель некоего специфического вещества оплодотворения, то как объяснить различия в его действии от вида к виду, от расы к расе, от индивидуума к индивидууму? Быть может, дело здесь в различных количествах этого вещества? Могут играть роль и различия в химическом строении молекул, однако лишь в ограниченной степени. Все заключенные в яйцеклетке условия, влияющие на процесс развития, можно собрать в единую сложную формулу, все переменные которой в каждый данный момент задают состояние плода, положение и скорость роста его частей. Вещество оплодотворения вызвало бы в такой формуле изменение лишь одного-двух коэффициентов. В таком случае, если не считать толчка, инициирующего развитие, мужское влияние сводилось бы к ослаблению или усилению немногочисленных отдельных свойств зародыша. Тогда, за исключением некоторых, всегда одинаковых модификаций, всю совокупность индивидуальных признаков плод получал бы в наследство от матери.

Вместо этого мы наблюдаем почти полное «равноправие» сперматозоида и яйцеклетки. Плод наследует самые различные своеобразные черты, во всем их многообразии и с бесчисленными оттенками как от отца, так и от матери, иногда в большей степени от одного, а иногда от другого из родителей. Ни этнографы, ни животноводы не были до сих пор в состоянии

сформулировать определенные правила относительно закономерностей наследования, которые имели бы сколько-нибудь общее значение[28, 9*].

Все эти наблюдения показывают, что у человека и вообще у высших животных действие сперматозоида носит весьма сложный характер; оно определяется большим числом почти равноценных факторов, и изменение каждого из них вполне определенным образом влияет па ход развития.

Имеется целый ряд оснований считать, что химические процессы как таковые и силы химического сродства не имеют решающего значения. В химическом строении сперматозоидов родственных семейств животных обнаруживаются радикальные различия. Так, в сперматозоидах лосося содержится протамин, а в семенных клетках карпа он отсутствует. В принципе все характерные для сперматозоида вещества встречаются также и в яйцеклетке, однако нигде они не имеют того особого пространственного расположения, как в сперматозоиде. Наряду с этим при всем химическом разнообразии семенные тельца обнаруживают общую для всех сложную структуру, которая, если не считать, что внешность всегда обманчива, выдает вообще характерный для сперматозоидов принцип внутренней организации.

Таким образом, все эти доводы заставляют нас с определенностью постулировать: какого-либо специфического вещества оплодотворения не существует. Химические процессы имеют второстепенное значение; они играют подчиненную роль в отношении некоторых более существенных явлений[10*].

Если пытаться найти подходящее сравнение, в котором бы отражались все исследованные явления, то, как мне кажется, лучше всего сравнивать сперматозоид с некоторым механизмом, генерирующим или преобразующим движение. Это сложный единый механизм, действие которого обусловлено не какой-либо отдельной деталью, а всей их совокупностью. В зависимости от вещества, формы, размера и взаимного расположения частей этого механизма, получающееся движение подвергается бесчисленным изменениям, приобретает тончайшие оттенки и может обладать исключительным разнообразием.

В действительности трактовка оплодотворения как физического процесса движения — единственная, которая не противоречит установленным фактам. Это может быть движение внутри сперматозоида, которое переда-

[28] Известно лишь, что изменчивость материала оплодотворения не должна переходить определенных границ, что существует соответствие сперматозоида яйцеклетке, которое иногда в большей, иногда в меньшей степени способствует полноценному взаимодействию подходящих и препятствует взаимодействию неподходящих (друг другу) половых продуктов. Именно в этом соответствии кроется секрет того, что органические формы непрерывно передают признаки из поколения в поколение. Чем более жестко будет соблюдаться это соответствие, тем скорее подобное будет рождать лишь подобное; чем больше свободы оно будет допускать, тем больше будет изменчивость. Это можно сравнить, например, с впервые упомянутым Зибольдом и определенно установленным Гисом точным совпадением размеров микропиле и семенных телец у лососевых. Именно с этой точки зрения можно будет определенно объяснить многие конкретные детали разнообразных структур сперматозоидов и яйцеклеток, тогда как другие, более общие и коренные черты будут связывать с важнейшими моментами процесса оплодотворения.

ется на яйцеклетку, или же движение, возникающее при контакте сперматозоида и яйцеклетки.

В настоящее время можно лишь делать предположения относительно природы этого процесса. Можно думать, что само движение сперматозоида представляет собой некий механический раздражитель. Однако молекулярные процессы, происходящие здесь, скорее напоминают процесс нервного возбуждения, да и почему собственно столь подобные фундаментальные свойства высокоорганизованной материи должны оставаться исключительной привилегией нервной системы, которая в конечном счете возникла вместе со всеми другими органами из массы бластомеров? Ни в какой другой области не приходится наблюдать такого мощного воздействия, вызванного толчком столь незначительной жизненной силы. Точно так же, как мышца в ответ на нервное возбуждение, яйцеклетка при соответствующем физическом и химическом воздействии приобретает совершенно новое качество; под направляющим влиянием сперматозоида молекулы не только стремятся к новому физическому равновесию, но и вступают в химическое взаимодействие друг с другом. Подобно тому как в возбужденной мышце интенсивность обмена веществ усиливается и меняется его направление, так и в яйце стимулируются процессы дыхания и превращения веществ, характерные для растущей клетки [29]. Существует лишь одно фундаментальное отличие. В мышце новое равновесие сохраняется лишь непродолжительное время после возбуждения. В яйце оно является начальным звеном бесконечной цепи процессов.

Две рассмотренные здесь точки зрения на сущность процесса оплодотворения никоим образом не исключают друг друга. Возможно, например, что специфический раздражитель имеет молекулярную природу, в то время как особенности передвижения сперматозоидов оказывают влияние на то место, в котором раздражитель действует на зародыш, на абсолютное и относительное время, в течение которого осуществляется контакт с различными частями зародыша, и в результате этого — на распределение интенсивности роста по зародышевому диску, в том смысле, как это понимает В. Гис, не говоря уже о многих других возможностях.

Характерные химические особенности, такие, например, как наличие протамина, естественно укладываются в цепь остальных фактов, если представить себе, что эти особенности вызывают изменение некоторых физических констант, оказывающих влияние на движение всей оплодотворенной массы. Протамин, например, может влиять на плотность. Таким образом, наличие подобных веществ следовало бы поставить в один ряд с такими особенностями формы, размера и т. д., которые считаются типичными для яйцеклеток определенного вида животных.

[29] Эффект оплодотворения как такового очень хорошо виден на примере яйцеклеток рыб: неоплодотворенные икринки, находясь рядом с развивающимися, месяцами остаются совершенно неизменными и почти не теряют в весе.

7. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ

Накопленный к настоящему времени богатый экспериментальный материал относительно формы семенных клеток использовался до сих пор не столько для объяснения их физиологических функций, сколько для поиска тех узловых моментов, которые позволили бы отвести этим необычным структурам определенное место в системе прочих тканевых элементов. В силу ряда причин многие гистологи ныне склонны рассматривать сперматозоиды как клетки мерцательного эпителия с получившим преимущественное развитие ядром — головкой, явно малым количеством протоплазмы — шейкой и сильно развитым хвостом. Необходимые замечания относительно первых двух составных частей были сделаны выше; представление о головке сперматозоида как о клеточном ядре требует некоторых дополнительных пояснений.

Поэтому мы остановимся на вопросе о том, действительно ли головки семенных клеток, как это можно предположить на основании морфогенетических соотношений, построены из того же материала, из тех же химических веществ, которыми характеризуется строение клеточных ядер.

Далее в дополнение к данным, сообщавшимся ранее, приводятся результаты некоторых сравнительных опытов, проводившихся на лейкоцитах из быстро образовавшегося абсцесса, т. е. на клетках, находящихся в стадии развития [30].

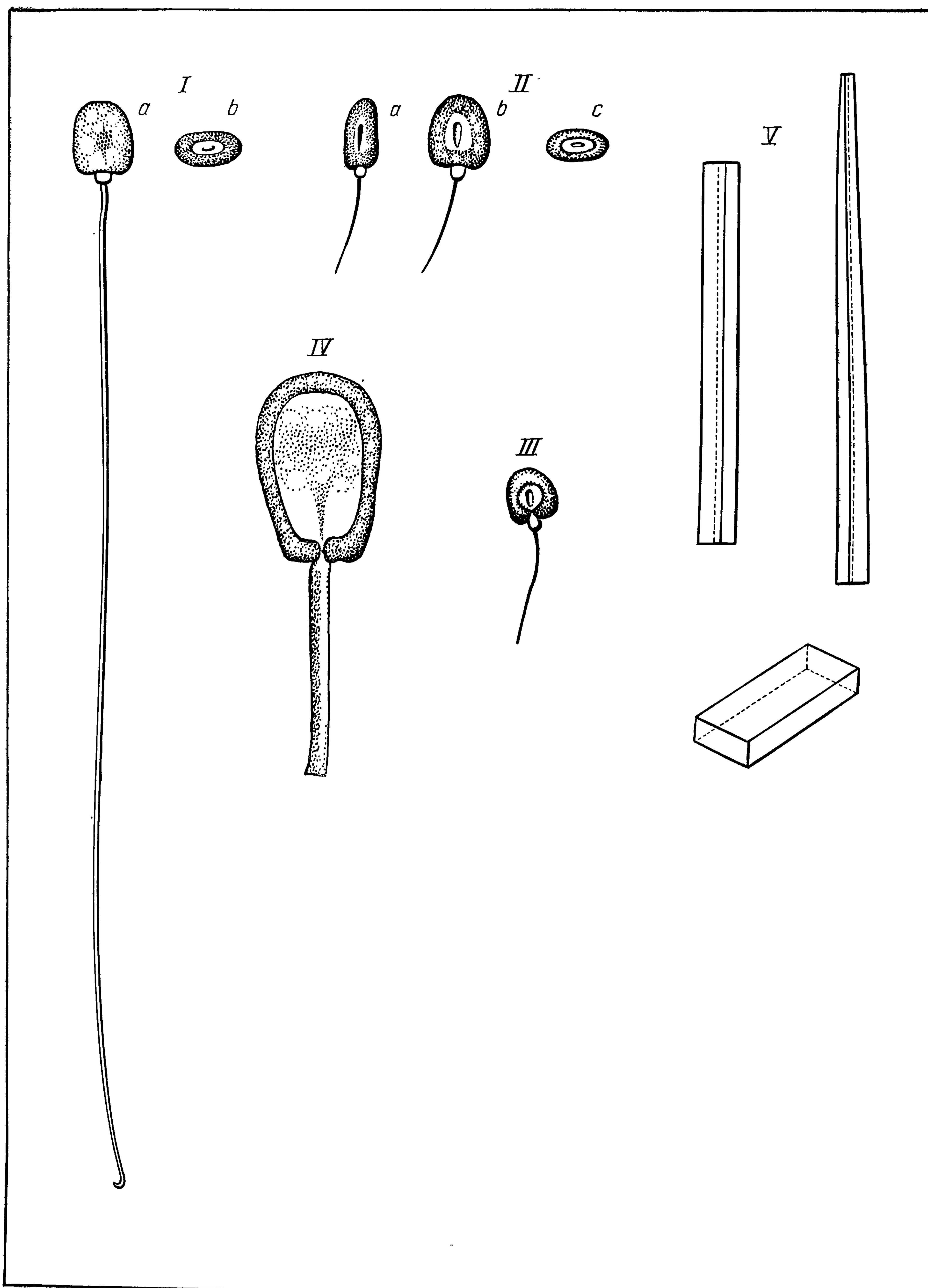
I. 0,5163 г очень чистых ядер, полученных из выделенных при помощи пепсина и обезжиренных клеток гноя [31], дали 0,0735 г $BaSO_4$ и 0,0550 г $Mg_2P_2O_7$=1,95%, 5 и 2,97% фосфора соответственно.

II. 0,4278 г ядер из другой порции гноя дали 0,0415 г $Mg_2P_2O_7$ = =2,71% фосфора.

Были предприняты многократные попытки получения чистого нуклеина из этих и других порций ядерных лейкоцитов тем же способом, который применялся при исследованиях сперматозоидов быка. Растворы в теплой натриевой щелочи имели желтоватый оттенок и слабо опалесцировали; их не удавалось отфильтровать до полной прозрачности. При действии соляной кислоты без добавления спирта выпадал бесцветный рыхлый хлопьевидный осадок нуклеина, который промывали чистой водой, при этом в раствор переходили лишь следовые количества. Для очистки его вновь растворяли и переосаждали едким натром. Свежеосажденное вещество легко растворялось в едком углекислом и фосфорнокислом натре, а также в аммиаке; при стоянии растворимость снижалась. Растворы в минимально необходимом количестве едкого натра давали кислую реакцию, что указывало на кислые свойства нуклеина. Аммиачные растворы хлорида бария, кальция или магнезиальной смеси давали без добавления спирта хлопьевидные осадки, однако при этом не происходило столь полного осаждения, как при действии кислоты. Соли меди и цинка давали растворимые в аммиаке, а соли протамина — плотные аморфные, не

[30] Hoppe-Seyler, Medicinisch-chemische Untersuchungen, S. 441.

[31] Необходимый мне материал был любезно предоставлен г-ми проф. Социном, проф. Бишофом и д-ром Хугельсхофером.


I
a
b
II
a
b
c
V
IV
III

растворяющиеся в аммиаке осадки. При осаждении с азотной кислотой наблюдалось желтое окрашивание, которое затем при добавлении аммиака переходило в оранжевое. Реактив Миллона давал четкое, хотя и достаточно слабое красное окрашивание. Пурпурно-фиолетовое окрашивание наблюдалось при кипячении с едким натром и медным купоросом. Вещество содержит неокисленную серу; его раствор в кипящей концентрированной соде вызывает интенсивное почернение металлического серебра.

I. 0,4325 г нуклеина при сжигании с содой и селитрой дали 0,0672 г $CaSO_4$ = 2,13% серы и 0,0562 г $Mg_2P_2O_7$ = 3,63% фосфора.

II. 0,3620 г нуклеина, полученного в другом опыте, дали 0,0495 г $BaSO_4$ = 1,85% серы и 0,0485 г $Mg_2P_2O_7$ = 3,73% фосфора.

При этом было показано, что при обработке натриевой щелочью вряд ли могли образоваться даже следовые количества фосфорсодержащих продуктов распада.

Наряду с нуклеином из ядер лейкоцитов, как и из сперматозоидов, при нейтрализации кислого фильтрата, полученного после отделения нуклеина, можно осадить белковое вещество, которое образует хлопьевидную муть при действии ферроцианида калия, дает отчетливую реакцию Миллона, содержит серу и небольшое количество (1,9%) фосфора. Значительные количества этого вещества обнаруживались и после непродолжительного переваривания, после которого ядра, хотя и были совершенно чистыми и «оголенными», еще сохраняли свое светлое содержимое; белкового вещества было мало или оно почти вовсе отсутствовало в том случае, если после действия пепсина оставались только сморщенные оболочки ядер. Судя по этим наблюдениям, описываемый альбуминат, безусловно, содержится внутри ядра[32].

Таким образом, в двух указанных моментах выявилось определенное сходство между семенными клетками и ядрами. Главное различие заключается в содержании серы в нуклеине. Это различие не может быть связано с загрязнениями; специальные исследования показали, что соедине-

[32] Я больше не поддерживаю высказанное ранее предположение, согласно которому из нуклеина под действием щелочей и кислот может возникнуть альбуминат. Белок полностью разлагается медленнее, чем нуклеин, и потому создается впечатление, что он возникает из последнего. Мои прошлые наблюдения сами по себе вполне подтверждают приведенные выше.

Рис. 1.

Fig. I. *a* — Семенная нить лосося (очищенная в йодистой сыворотке; *b* — то же, поперечный разрез (оптический). Осаждение цианидом

Fig. II. Семенные нити лосося, полученные осаждением треххлористым золотом, хвостовая нить удалена: *a* — вид сбоку; *b* — вид с широкой стороны; *c* — разрез (оптический)

Fig. III. Семенная нить карпа, полученная осаждением треххлористым золотом; светлая внутренняя полость при этом выглядит желтой

Fig. IV. Головка семенной нити быка с выраженной оболочкой

Fig. V. Кристаллы солянокислого протамина. Образцы лежали практически горизонтально, поэтому при микроскопическом наблюдении боковые поверхности не были видны

ния с медью, известью и цинком едва ли менее богаты серой. Соединение нуклеина с медью содержало 2,38% серы в расчете на органическое вещество, соединение с известью — 1,55% серы. При этом содержание серы не столь уж постоянно. Судя по содержанию серы в ядре, в целом можно было бы предполагать, что наряду с белком еще бо́льшие количества ее содержит нуклеин, однако часть серосодержащего вещества, по-видимому, разлагается при получении.

На основании этих данных мне представляется наиболее вероятным предположение о том, что действительно существует серосодержащий нуклеин, который расщепляется теплыми щелочами на нуклеин, не содержащий серы, и включающее неокисленную серу соединение. Это не белковое соединение, поскольку содержание серы в нем слишком велико; скорее можно думать, что оно содержит такую же группу атомов, как и кератиновые вещества. Если взять сперму быка, указанное расщепление происходит легко, для ядер лейкоцитов — с несколько большим трудом. Весьма возможно, что оба типа нуклеина могут встречаться в ядрах одновременно. Это, очевидно, реализуется в желточных зернах куриного яйца. Остаток после переваривания содержит в этом случае 0,45% серы. В оставшемся после отделения нуклеина фильтрате обнаруживались следы белка в виде ацидальбумина; полученный многократным растворением в возможно меньшем количестве холодного едкого натра нуклеин, содержащий 0,25% серы, несмотря на значительно более высокое содержание фосфора, давал все те же реакции, что и нуклеин лейкоцитов. И в этом случае соединения также не оказались полностью свободными от серы. Я хочу предложить называть в дальнейшем содержащий серу продукт сульфонуклеином в отличие от обычного нуклеина.

Эти вещества трудно отличить друг от друга, поскольку присутствие серосодержащего соединения не вызывает существенных изменений во внешнем виде нуклеина, в его растворимости, отношении к солям металлов и т. д. Можно было бы сослаться на красное окрашивание с реактивом Миллона или фиолетовое — с едким натром и медной солью, однако такие же эффекты дают даже малые примеси белка.

Напрашивается мысль, что в химическом строении ядерных структур сульфонуклеин играет по сравнению с обычным нуклеином особую роль. Если рассмотреть строение исследованных до настоящего времени объектов, то можно отметить, что содержание серы тем меньше, чем бо́льшая доля общей массы приходится на оболочку. Поэтому в дальнейших исследованиях следует уделить внимание вопросу о том, не содержится ли сульфонуклеин во внутренних структурах ядра (в ядрышке, гранулах и т. д.).

Необходимо далее задать себе такой вопрос, вправе ли мы считать идентичными не содержащие серу нуклеины, полученные из различных источников. При этом не принимаются в расчет те свойства, которые могут быть обусловлены незначительными примесями, например реакция Миллона. Однако и к различиям в содержании фосфора надо относиться с большой осторожностью из-за опасности разложения; их следует принимать всерьез лишь в тех случаях, когда отчетливо доказано отсутствие

фосфорсодержащих продуктов разложения в переваривающей жидкости и ее фильтратах[33]. Тем не менее представляется весьма вероятным, что нуклеин гноя лейкоцитов содержит меньше фосфора, чем другие, так как при такой же обработке из яйцеклеток и сперматозоидов получают больше фосфора; возможно, причиной этого является присутствие серосодержащего вещества.

Кроме этих, остаются еще различия, которые трудно объяснить как-либо иначе, нежели допустив наличие разных не содержащих серу нуклеинов. Более высокое (на 3%) содержание азота в веществе из сперматозоидов быка можно на худой конец связать с тем, что при его получении $^1/_4$ первоначального содержания фосфора отщепляется в форме вещества, не содержащего азота, и, как показывает опыт, при таком отщеплении всегда остается более богатый азотом остаток. Зато этот нуклеин и его баритовое производное нерастворимы в воде и выпадают в осадок без добавления спирта в отличие от растворимого нуклеина из сперматозоидов лосося. Имеющиеся факты не позволяют принять в этом вопросе окончательное решение.

Что касается значения головки сперматозоида, то можно считать твердо установленным, что по своим главным признакам ее состав связан с материалом клеточных ядер. Однако это лишь наполовину решает морфологический вопрос. В своем превращении в головку сперматозоида ядра зародышевых клеток должны были претерпеть своеобразный метаморфизм, так что в конце концов они по форме и внешнему виду далеко ушли от обычных клеточных ядер. Чрезвычайно интересно было бы знать, можно ли на протяжении всех этих изменений проследить важнейший основной принцип ядерной структуры, какое-то закономерное пространственное расположение известных типичных компонентов, в результате взаимодействия которых ядро превращается в столь важный орган элементарного организма. Но так как у низших животных (мириаподы, арахниды по Кёлликеру) сперматозоид, не имеющий подвижного придатка, представляет собой лишь измененное ядро, ясно, что головка сперматозоида является главным компонентом, имеющим решающее значение.

В настоящее время на этот вопрос еще нельзя точно ответить по той простой причине, что гистологии еще не известен решающий принцип ядерной структуры. В большинстве случаев ядро представляет собой пузырек (Кёлликер) или располагает хотя бы отчетливой мембраной; иногда его описывают как безмембранное, гомогенное (Штрикер), в последнем случае оно то более плотное, то студенистое, иногда вакуолеподобное (по Ремаку и Рейхерту), даже вязкое в зависимости от локализации и стадии развития. К важнейшим компонентам ядра относятся ядрышки; число их варьирует от 0 до 16 и больше (Ауэрбах). Затем были еще описаны, и именно в области нервной системы, ядра более сложного строения с выступающими ядрышковыми нитями, наличие которых, правда, часто

[33] И. Ворм Мюллер, который не обратил внимания на разложение нуклеина, пришел из-за этого к ошибочным выводам (Pflüger's Arch., VIII, 190). При использовании пепсина целесообразно тщательно установить время переваривания, точно необходимое для тонкого разделения.

оспаривают; именно в этих случаях особенно напрашивается сравнение со структурой тела сперматозоида.

Это и другие обстоятельства вынудили занимавшегося в самое последнее время структурой ядра Ауэрбаха[34] сделать примечательное для гистолога признание, что «единый принцип этих явлений часто лежит глубже морфологического уровня»[11*].

В самом деле, приходится сознаться в том, что до сих пор главным критерием, на основании которого тот или иной форменный элемент признавался ядром, было не его свойство, а то положение, которое он занимает, любая округлая структура в протоплазме клетки, которая не является ни жировой каплей, ни кристаллом, ни зерном хлорофилла, крахмала или гликогена, ни несомненной вакуолью, сразу же признается за ядро, особенно если ядра как такового нет, причем не очень-то считаются с принятой схемой. Напротив, какие бы то ни было основания отсутствуют, если структура характерного вида встречается на месте, на котором не склонны подозревать наличие ядра. Внешние аналогии, переносимые с одного объекта на другой, выручающие в столь многих случаях, здесь отказывают. Так, например, какие бы то ни было высказывания за или против по поводу ядерной природы желточных зерен лишь на основании их оптических свойств, без привлечения других фактов свелись бы к пустому словопрению.

Наступило время раз и навсегда освободить понятие клеточного ядра от этих переменных побочных свойств и связать его с теми свойствами, которые находятся в тесной внутренней связи с его общей физиологической функцией[12*]. Именно к таким свойствам относится его химический состав. Если исходить из того, что внешность не всегда обманчива, то главную роль здесь могут играть нуклеиновые тела благодаря их способности обособляться от протоплазмы как в свободном состоянии, так и в виде соединений в форме пластичных, содержащих воду набухающих структур. Нуклеиновые вещества могут встречаться также растворенными, связанными со щелочами; в этом случае можно допустить, что они распределены в протоплазме; быть может, они служат предшественниками некоторых ядерных образований. Из незрелого семенника лосося на высоте стадии усиленной пролиферации многоядерных клеток мне удалось получить после обезжиривания горячим спиртом нейтрально реагирующий водный экстракт, из которого путем простого закисления добавлением HCl был осажден в значительном количестве чистый нуклеин; очевидно, он был связан со щелочами, так как органические основания в экстракте отсутствовали.

При поисках нуклеина в тканях не в последнюю очередь следовало обращаться к обычным гистохимическим реакциям, отношению к растворителям и т. п. Сравнение столь резистентной бычьей спермы с набухающей в воде спермой карпа показывает, что глубокое сходство в химической структуре может сопровождаться существенными различиями во

---

[34] Organische Studien. Breslau, 1874. I. S. 5.

внешнем поведении. Во многих случаях, если это удается, приходится искать поддержку в элементном анализе.

Далее мы можем проследить разнообразные способы появления ядерных структур, не теряя при этом связующей нити. По известному составу материала можно будет распознать ядро в различных его формах, в развивающемся и в покоящемся вегетативном состоянии, в виде несозревшей структуры и в состоянии регрессивного метаморфоза, в состоянии редукции и снова в процессе усложняющего развития для более высокой функции [13*].

Так, например, желточные зерна куриного яйца содержат преимущественно нуклеин и при этом некоторое количество сульфонуклеина, однако почти полностью отсутствует белковоподобное вещество, которое, по-видимому, будучи связано с нуклеином, составляет содержимое сперматозоидов и гнойных ядер. Так как разделение вовсе не было слишком тонким, то по крайней мере некоторое количество белка, как и в упомянутых объектах, должно было остаться защищенным нуклеиновой оболочкой от быстрого переваривания. Поэтому желточные зерна можно рассматривать как редуцированные ядра, для которых нельзя a priori исключить возможность того, что под влиянием какого-нибудь толчка с внедрением белка они могут снова восстановиться. Для представления о яйце это небезынтересно. Как не пытались выявить в яйце все известные элементы клеточной структуры, чего-то все же недоставало из того, что необходимо для оснащения полноценной живой клетки; должна же быть какая-то причина того, что в организме высших животных некоторая, несомненно, протоплазматическая масса впадает в состояние покоя, из которого ее снова может вывести только сперматозоид [35].

Таковы разнообразные точки зрения, которые заставляют предпринять по возможности подробные сравнительные исследования ядерных структур и сперматозоидов. Если бы удалось привести убедительное доказательство того, что вхождение сперматозоида в яйцеклетку, по существу, равноценно вхождению в массу яйца физиологически полноценного клеточного ядра, то загадка оплодотворения удивительным образом слилась бы с общей элементарной проблемой жизни клетки, мы бы получили неповторимый поставленный самой Природой эксперимент, который позволил бы нам глубже понять роль ядра, а исследование сперматозоида приобрело бы значение, выходящее далеко за пределы проблемы размножения, ибо здесь Природа представляет в наше распоряжение в доступной для анализа форме одно из тех простых фундаментальных активных устройств, которое в состоянии преобразовывать энергию в особую форму жизненного движения.

Базель, февраль 1874 г.

P. S. Во время просмотра корректуры мне сообщили о новом (последнем?) исследовании Т. Аймера [36] о нитях сперматозоида. Данные Аймера

[35] Согласно интересному наблюдению д-ра Линдгрена из того же института, зародышевый пузырек млекопитающих (корова, овца, свинья) в отличие от ядер зародышевого эпителия растворим в $^{1}/_{1000}$ HCl.

[36] Ueber den Bau und die Bewegungen der Samenfäden. Würzburg, 1874.

не противоречат моим, а, к счастью, в значительной мере их дополняют. Воспользовавшись весьма подходящим объектом — сперматозоидом летучей мыши, он сумел действительно доказать наличие центральной нити хвоста, о чем я лишь подозревал. Наблюдения Аймера, касающиеся строго типичного закономерного характера движения сперматозоида, хорошо согласуются с моими соображениями по поводу процесса оплодотворения, высказанными на совершенно иных основаниях.

О ЯЙЦЕ [1]*

Строение яйца животных, о котором я хочу сделать здесь небольшое сообщение с позиций химика, служило предметом многочисленных исследований; нет ничего удивительного в том, что выделяемая материнским организмом частица органической материи, которая может стать истоком нового поколения, привлекала к себе живой интерес исследователей.

В связи со строением яйца ученые интересовались тремя вопросами.

Во-первых, как относится яйцо к материнскому организму? Что в него закладывается прежде, чем оно выделяется? (Морфологическое значение.)

Это выясняется в процессе развития яйца.

Самый простой принцип выявляется на низших животных (черви). С начала и до полного развития яйцо имеет все признаки клетки, т. е. одной из тех органических единиц, из которых состоят все существа, не только принадлежащие к низшим классам; самые низшие существа даже считаются простыми клетками. Протоплазма, ядро, мембрана. А если мы, кроме того, представим себе, что эта клетка путем простого роста и деления образует эмбрион, то наше понимание яйца станет простым и ясным. Разумеется, это не послужит разгадкой того, как в такой простой клетке умещается исток всей дальнейшей организации.

Уже на уровне беспозвоночных (черви, членистоногие) дело усложняется, когда мы убеждаемся в том, что не только питательные вещества, но и форменные элементы различной природы поставляются двумя совершенно разными железами или различными частями одной железы, так что каждое яйцо содержит материал двоякого происхождения, не говоря уже о том, что еще и в третьем месте — в яйцеводе — образуется особая мембрана, окутывающая всю структуру.

Тогда облегчили себе дело тем, что стали считать собственно яйцом продукт одной железы, который по своим свойствам заслуживает того, чтобы именоваться клеткой, а заполненное в большинстве случаев темными зернами тело, образуемое другой железой — желточником, рассматривать просто как добавочный питательный материал. Протоплазма — дейтероплазма.

У позвоночных не наблюдается пространственного разделения, однако у рыб, птиц и некоторых пресмыкающихся приходится различать одну

часть яичного желтка, которую следует еще рассматривать как собственно яйцеклетку, и другую, преобладающую по массе часть, которая представляет собой исключительно питательное вещество — густую жидкость с различными форменными элементами — сильно преломляющими свет желточными зернами (а также жировыми каплями и т. д.). Основанием для такого разделения служит то, что в процессе развития яйца в яичнике сначала действительно различима структура, имеющая вид простой клетки,— примордиальное яйцо, и лишь затем при значительном увеличении в размере отложение желточных зерен или наслоение желточной жидкости придает структуре свойства собственно яичного желтка. Поэтому питательный желток считается продуктом секреции эпителия. В сформировавшемся яйце желток развития появляется в виде небольшого сегмента, который еще в той или иной степени сохраняет первоначальное состояние и зародышевый пузырек (первоначальное ядро); и это именно та часть, которая впоследствии ведет себя как клетка, которая дробится и образует скопление клеток, превращающееся впоследствии в тело эмбриона.

Правда, яйцо лягушки дробится как единая масса, точно так же как и яйцо млекопитающих, которое, вообще говоря, в большинстве случаев на протяжении всего своего существования сохраняет тип простой клетки.

Кроме того, в яйце находятся чисто добавочные части: слизистый слой (лягушка), белок, оболочка и т. д. Могло пойти к тому, что надо было спасать представление о яйце как о простой клетке, если бы за последние десять лет взгляды не изменились,— тем частям яйца, которые до этого считались питательным желтком, стали придавать более важное значение.

Некоторые из вас, наверное, еще помнят утверждение профессора Гиса о том, что так называемые белые желточные шары куриного яйца, из которых на ранних стадиях развития состоит весь желток, представляют собой тот материал, из которого независимо от дробящегося зародыша образуются сосуды и кровь, участвующие путем врастания в формировании соединительнотканного скелета, хряща, костей и т. д. [2*]

То, что сосуды и кровь действительно образуются из зародышевого материала, находящегося вне собственно тела эмбриона, было впоследствии многократно показано для яиц птиц и констатировано для яиц рыб; не могли лишь прийти к единому мнению относительно того, происходит ли этот материал действительно из элементов желтка или туда находят свой путь шары дробления.

Здесь уместно поставить вопрос перед химией, имеются ли какие-нибудь элементы желтка, которые химически отвечают требованиям, предъявляемым к клетке, хотя по своим оптическим свойствам представляются несколько необычными.

Если в яичном желтке действительно присутствуют какие-то еще элементы клеточной природы, то яйцо можно было бы рассматривать не как простую клетку, а как орган.

С предыдущим тесно связано следующее представление: какие части яиц различных животных соответствуют друг другу, гомологичны, играют одинаковую физиологическую роль? Этот вопрос особенно оправдан, так как у близких групп животных отмечаются существенные различия. Так, у лососевых желток представляет собой прозрачную жидкость, а у карповых состоит из желточных пластинок.

Действительно ли одинакова физиологическая роль прозрачной жидкости, характерной для яйца лосося, и клеточноподобной структуры других яиц? Как относится вещество яйца к веществам живых эмбриональных клеток, которые из него возникают? Ответ на последний вопрос может пролить свет на химические процессы, происходящие при клеточном росте.

Из яиц позвоночных, изучением которых я занимался, проще всех построено яйцо у бесхвостых амфибий.

Bombinator. Свежеполученное из яйцевода яйцо представляет собой прозрачную негустую жидкость, в которой суспендированы желточные пластинки и капельки жира. Над ней находится оболочка и затем фолликулярный эпителий. Присутствовавший на более ранних стадиях зародышевый пузырек в зрелом яйце отсутствует.

Под действием уксусной и угольной кислот из жидкости выпадает осадок, растворимый в избытке этих кислот. Подобно всем видам яичного желтка, жидкость эта в свежем состоянии дает кислую реакцию; при действии воды происходит неполное осаждение. Все эти осадки (как и полученный под действием абсолютного спирта) удивительно скудны. Жидкость легкотекучая, невязкая. И все же перед нами яйцо с тотальным дроблением.

Дробление предполагает неравномерность внутренних напряжений, что при жидком агрегатном состоянии невозможно. Между моментом оплодотворения и дробления должно произойти какое-то химическое изменение массы яйца, в результате которого дробление становится физически возможным.

Действительно, я обратил внимание на то, что шары дробления яйца лягушки состоят из протоплазмы, нерастворимой в растворе поваренной соли. Ни один из белков яйца лягушки в зрелом яйцеводе не обладает этим свойством.

Сказанное — это лишь упоминание о тех фактах, о которых я еще, возможно, буду иметь случай поговорить более подробно.

Здесь же мы уделим более пристальное внимание так называемым желточным пластинкам, которые составляют почти всю массу плотного вещества яйца жерлянки.

Начиная с 1841 г. известно[1], что в яйцах многих видов амфибий имеются в большом количестве своеобразные кристаллоподобные, сильно преломляющие свет пластинки; их принимали за жир, (стеарин) как и все,

[1] *Bergmann.* См.: *Lehmann.* Zoochemie, S. 280.

И. Мюллер описывает желточные зерна яиц ската как легко растворимые в кипящем спирте и эфире (1842). Также и *C. Vogt.* Alytes obstetricans, 1842 (стеариновые таблички).

что под микроскопом блестит. В 40-х годах, (точнее, в 1846 г.) Вирхов показал, что они действительно содержат жир, но что их основные скопления дают реакции, характерные для белков. Аналогично ведут себя четырехугольные структуры в яйцах карпа и т. д.[2] Все эти опыты были чисто микрохимическими.

Подробные анализы были проведены в 1854 г. французским химиком Фреми в содружестве с зоологом Валансьеном. Это были подробные расширенные исследования, проведенные на яйцах различных видов акул и скатов, а затем карпов и черепах. В этих исследованиях были выделены в чистом виде большие количества своеобразных структур и проведен их элементный анализ.

Эти структуры давали реакции (растворимость в окиси калия и т. д.), которые приближали их к белкам, но были, однако, не совсем обычными (отсутствие фиолетового окрашивания с соляной кислотой), так что Валансьен и Фреми сочли возможным рассматривать эти пластинки как самостоятельные вещества. Даже между собой эти вещества, принадлежащие различным яйцеклеткам, различаются: так, желточные пластинки карпа растворимы в воде, а пластинки хрящевых рыб — нерастворимы.

Особый интерес представляли результаты элементного анализа. Состав вполне соответствовал белковым телам, если не считать значительного содержания фосфора. Аналогичным оказалось вещество, присутствующее в круглых зернах яйцеклеток черепахи. Валансьен и Фреми различают ихтин, ихтидин и эмидин.

Завязалась также дискуссия по поводу того, следует ли считать структуры, границы которых имеют углы, истинными кристаллами или нет. Решающим здесь должно быть наличие или отсутствие двойного преломления. Сенармон, с которым по этому поводу консультировались Валансьен и Фреми, этим не интересовался. Радлькофер показал, что, находясь между гипсовыми пластинками, желточные пластинки дают цветовые эффекты, которые могут служить показателем различного преломления в разных направлениях; на этом основании он относил их к кристаллам белковоподобного вещества[3]. Являются ли пластинки истинными кристаллами или нет, несомненно одно, что Валансьен и Фреми имели перед собой тканеобразующее вещество, самое чистое из тех, какие когда-либо попадали в руки специалистов по физиологической химии до открытия гемоглобина.

Однако в течение 22 лет эти данные лежали мертвым капиталом — никто другой ими всерьез не занимался. В 1858 г. Леман отозвался о них пренебрежительно — как о не отвечающих требованиям науки. Легко разделались и с необычным содержанием фосфора. Его отнесли за счет примеси фосфорсодержащего жира — так называемого лецитина, как будто у Фреми не было отчетливо сказано, что он кипятил свои вещества со спиртом и эфиром.

Теперь я вернусь к своим собственным наблюдениям.

[2] Вирхов установил, что желточные пластинки растворимы в окиси калия, набухают в уксусной кислоте и окрашиваются йодом в желтый цвет.

[3] Данные о перекристаллизации из масла ошибочны. В масле они оптически просто исчезают.

Выделить желточные пластинки удалось мне сначала в опытах на яйцеклетках шелковичного червя путем простого растирания с водой, при котором более крупные и более тяжелые пластинки осаждались на дно. Они были растворимы в растворах солей и давали реакции, присущие белкам, в той форме, в какой они были давно известны для белка куриного яйца и хрусталика глаза. Растворимость в растворе поваренной соли исчезает после кипячения со спиртом, т. е. происходит изменение, сходное с коагуляцией.

При обработке теплым спиртом образуется сальная набухающая в воде масса, содержащая азот, фосфор и жир; вот уже несколько лет эта масса именуется лецитином (100 частей дают около 16 частей последнего).

В соответствии с данными Фреми осадок имеет 3,5% фосфора и дает кислую золу.

Что может означать такое содержание фосфора у вещества с реакцией, характерной для белка?

Переваривание дает сначала прозрачный раствор, а затем, однако, хлопьевидный осадок вещества, которое мы считаем фосфорсодержащим нуклеином. Следовательно, речь идет о соединении белка с нуклеином, расщепляющемся при переваривании.

Аналогичным образом ведут себя желточные пластинки из зрелых яиц Pristiurus, которые мне прислал профессор Гис из Неаполя. Эти пластинки значительно крупнее, имеют несколько скругленные поверхности, а вещество, растворимое в NaCl, заключено в оболочку, состоящую из другой разновидности белка. Здесь также содержится фосфор.

Что касается кристаллической природы, я в отличие от Радлькофера не считаю возможным высказываться столь определенно. Правда, бросается в глаза чрезвычайная плотность и раскалывание на пластины при растворении в кислотах. С другой стороны, однако, вещество внутри представляется менее плотным или, быть может, содержащим больше вещества, растворимого в спирте, так что внутри возникает более светлый участок, иногда даже вакуоля с полностью гладкими наружными контурами, так что, возможно, речь идет о структуре, увеличивающейся в результате всасывания. Быть может, здесь перед нами структура, физическое строение которой (кристаллические свойства) нельзя охарактеризовать двумя словами. О возникновении желточных пластинок я еще ничего не могу сказать. Во всяком случае, в развитии яйца имеется стадия, на которой они отсутствуют.

У акулы желточные пластинки образуют не исключительно форменные (структурные) элементы; они находятся в питательном желтке. Та часть яйца, которая дробится, содержит, как и в курином яйце, бледные мелкие шары, которые, судя по реакциям, состоят из нуклеина, не связанного с белком и включенного в протоплазмоподобную массу.

Яйцо лосося. Толстая капсула яйца (двоякопреломляющая) служит прекрасным примером клеточной мембраны (вариант белка, очень плохо растворимый). Под ней находится корковый слой с шарами, так называемыми ядрами, и с жировыми каплями, подобно протоплазме способного

к дроблению зародыша с более мелкими зернышками, которые частично состоят из жира, а частично нет. Все это вместе составляет лишь небольшую часть. Все остальное — прозрачная жидкость.

Жидкое содержимое отличается удивительными свойствами. Прежде всего колоссальная концентрация. В воде осаждается, в растворе поваренной соли растворяется (0,75%). Выпавший осадок представляет собой не что иное, как то вещество желточных пластинок, которое мы назвали вителлином.

Спирт экстрагирует лецитин. (Яйцеклетки рыб являются особенно ценным материалом хотя бы потому, что полученный из них лецитин чище любого другого.)

Путем переваривания получают сначала раствор вителлина и лишь затем осаждают нуклеин.

Что касается коры и зародыша, то оба они химически весьма резистентны, но поддаются перевариванию. Однако упомянутые «ядра» состоят не из одного только нуклеина: они растворимы в соляной кислоте, так что я счел их за образовавшийся в корковом слое предшественник вителлина.

Наконец, я снова обратился к куриному яйцу, с которым имел дело раньше. Уже в 1871 г. я путем переваривания получал из него большие количества нуклеина; в небольшой части это были сильно преломляющие свет тела, которые профессор Гис считал ядрами белых желточных клеток; и именно химическая природа этих структур выдвигалась в защиту от нападок Кёлликера против представления о белых желточных шарах как о клетках. Однако самая большая часть нуклеина присутствовала в форме сильно преломляющих свет зерен, которые я тогда считал предшествующими. Сейчас я пришел к тому убеждению, что этот нуклеин почти целиком должен был возникнуть в результате переваривания, так как сильно разбавленная соляная кислота растворяет все до желточных зерен и небольшого числа мелких зерен, наподобие жировых капель; нуклеиновые же зерна должны быть в соляной кислоте нерастворимы.

Поэтому я не сомневаюсь в том, что здесь главную роль играет аналог желточных пластинок — соединение нуклеина и белка. Здесь также присутствует лецитин.

Таковы основные факты. В другой раз будет сообщено больше.

Таким образом, главный результат сводится к тому, что между различными типами построения питательного желтка имеется соответствие, как только мы переходим от морфологических аспектов к химическим.

Повсюду основную роль играют три вещества, известные как компоненты развивающейся клетки: белок, нуклеин, лецитин[4]. Так что, по существу, неверно рассматривать желток только как питание; скорее он уже содержит химический строительный материал клетки.

[4] Сформировавшийся организм образует свои содержащие нуклеин и лецитин клетки из пищи, содержащей белки, жиры и фосфорную кислоту.

Этот строительный материал, однако, еще не клетка. Ничто не может более отчетливо противопоставить органическое и организованное вещество.

В нормальных жизнеспособных клетках нуклеин обнаруживается всегда в ядре по большей части в свободном виде или в соединении со щелочами. Недавно тот же Кюне показал, что если подвергнуть перевариванию самые разнообразные ткани, железы, мышцы и т. п., во всех случаях можно получить нуклеин из ядер не в расщепленном виде, а в составе уже сформированных структур.

Процесс, в результате которого желточный материал становится компонентом эмбриона, должен быть с самого начала истинным процессом переваривания (переваривание в прорастающей финиковой косточке, переваривающие ферменты в прорастающем семени гороха).

ЗАМЕЧАНИЯ К УЧЕНИЮ О ДЫХАТЕЛЬНЫХ ДВИЖЕНИЯХ [1]*

Если в физиологии вообще существуют общие вопросы, доступные для разработки с различных сторон, то к ним, несомненно, принадлежит старая проблема, касающаяся того, как возникают дыхательные движения и с помощью каких вспомогательных средств они столь тонко подгоняются к постоянно меняющимся требованиям, предъявляемым к дыханию. Сегодня нам представляется совершенно ясным значение обмена воздуха в легких, и мы полагаем, что нам теперь известны некоторые факторы, которые принимают в этом участие. Нам известны газы крови, и мы имеем определенные, основанные на многих точных исследованиях представления об обмене этих газов в тканях, с одной стороны, и с легочным воздухом — с другой, а также о действующих при этом силах диффузии и химического сродства. Нам не только известны действующие при вдохе и выдохе мышцы и их нервы, но со времени Легаллуа мы знаем, что ограниченные участки в центральной нервной системе приняли на себя функцию направлять к дыхательным мышцам возбуждения, обеспечивающие целесообразную координацию и отвечающие по силе и времени следования требованиям, предъявляемым к дыханию, и сейчас мы спорим лишь о том, являются ли эти активные центральные участки одиночными или множественными и находятся ли они в продолговатом или спинном мозгу или и в том и в другом [1]. Далее мы оказались в состоянии с помощью многочисленных искусственных внешних воздействий через посредство центрипетальных нервов различным образом влиять на дыхательные движения, и особенно сюда относится надежно вызываемое, но с трудом полностью снижаемое влияние распространенных по ткани легкого ветвей вагуса, который со времени работы Траубе на протяжении трех последних десятилетий все снова и снова привлекал к себе внима-

ние исследователей и привел к появлению почти необозримого ряда работ.

Хотя к настоящему времени скопился огромный материал опытов и наблюдений, каждый, кто хочет разобраться в этой области, изучая огромную литературу, сразу же заметит, как трудно из имеющихся в наличии строительных блоков воздвигнуть нечто цельное, как много внутренних противоречий необходимо преодолеть путем критического анализа и накопления новых наблюдений, прежде чем удастся создать связанную ясную теорию дыхания. В этом смысле представляется, пожалуй, небесполезным кратко осветить некоторые из важнейших противоречий, до сих пор рассматривающихся обособленно, представив их во взаимной связи, и после того, как высказалось так много опытных экспериментаторов, будет дозволено поделиться своими впечатлениями и стоявшему до сих пор в стороне нейтральному читателю. Такому обзору посвящены следующие страницы, тогда как еще не законченные опыты, которые связаны с данной областью, будут подробно рассмотрены в другом месте.

На протяжении длительного времени центр тяжести учения о причине дыхательных движений неоднократно перемещался на вновь всплывающие вопросы. Каким образом после состояния покоя в утробе возникает первый дыхательный импульс у новорожденного? Является ли он результатом сенсорного раздражения со стороны самого акта родов, охлаждения, механических воздействий, преходящее влияние которых столь благотворно стимулирует дыхание полузадохнувшегося новорожденного, или что-то имеется в крови плода, что изменяется под влиянием акта родов?

Это те же противоречия, которые проходят через все дискуссии о дыхательных движениях с самого начала до сегодняшнего дня, и если эти противоречия сейчас более запутаны, чем когда бы то ни было, то это объясняется тем, что сейчас снова оспаривают господство между собой или по крайней мере долю своего участия в этой области не различные факторы крови, а различные сенсорные влияния.

Ввиду столь многочисленных превосходных представлений старых теорий дыхания нам было бы достаточно связать обсуждение с тем поворотным пунктом, который наступил в вопросе о возникновении первого дыхательного движения под влиянием знаменитой работы Шварца [2]. После того как Шварц более последовательно, чем кто-либо другой до него, обосновал представление о том, что возникающие при тяжелых родах столь опасные преждевременные дыхательные движения плода, как правило, связаны с нарушением плацентарного транспорта, т. е. с прекращением газообмена между матерью и плодом, эту же точку зрения сочли вполне применимой и для объяснения нормального дыхания; именно она была отчетливо сформулирована Розенталем [3] и частично обоснована новыми экспериментами. Вопреки теории Иоганна Мюллера, согласно которой кровь, содержащая кислород, воздействует на мозг, возбуждая его дыхательные центры, было показано, что, хотя, конечно, доставка артериальной крови необходима для длительного сохранения возбудимости мозга, не в ней следует искать специфический дыхательный

раздражитель. Точно так же высказанная Фолькманом [4] и Фирордтом [5] идея о том, что потребность всех органов в кислороде рефлекторно возбуждает дыхание через посредство всех чувствительных нервов, выдвигает подспудно представление, которое с тех пор стало господствующим в учении о дыхательных движениях; оно состоит в том, что в дыхательном центре продолговатого мозга возникает тем более сильное раздражение, чем более венозный характер носит омывающая его кровь, чем сильнее эта кровь отличается по газовому составу от нормальной артериальной и чем больше приближается к крови животного в состоянии удушья. Только с этой точки зрения можно связать все воедино: преждевременные дыхательные движения плода; усиление дыхания, наступающее при мышечном напряжении, при котором кровь приобретает более венозный характер, при дыхании в замкнутом помещении, в случаях отсутствия обмена воздуха в помещении и как предвестник наступления судорог Куссмауля — Теннера после перевязки сосудов мозга.

Разгоревшийся с начала 60-х годов между Траубе [6] и Розенталем [7] спор о том, что является важнейшим моментом в стимуляции одышки или нормальных дыхательных движений — недостаток кислорода или избыток углекислоты, был в 1864 г. решен Пфлюгером и Доменом [8] при согласии большинства коллег; сошлись на том, что действует или по крайней мере может вступить в действие и то и другое, правда, несколько по-разному. Отныне после тщательных исследований Поля Бера [9], а также Фридлендера и Хертера [10] все так и должно остаться, несмотря на возражения Розенталя [11] — защитника односторонней кислородной теории. Позже мы рассмотрим подробнее эту дискуссию.

Решающий эксперимент в пользу венозной теории дыхания, казалось, был наконец найден, когда Розенталю [12] удалось вызвать у кролика остановку дыхания усиленным вдуванием воздуха. Каким простым и прозрачным, в известной мере само собой разумеющимся было это исчезновение дыхательного стимула в мозгу при усиленной аэрации крови! Едва ли кто-то обратил внимание на то, что уже тогда Тири [13] удалось добиться остановки дыхания вдуванием смеси, состоящей из равных частей воздуха и водорода.

Наряду с дыхательным центром и его связью с кровью снова взяли свое и чувствительные нервы. Стремясь опровергнуть вновь подхваченную Э. Рахом [Диссертация, Кенигсберг, 1863] теорию Фолькмана и Фирордта о том, что сумма раздражений, идущих от всех чувствительных нервов, рефлекторно поддерживает дыхательные движения, Розенталь [14] предпринял попытку показать, что дыхание продолжается даже после пересечения спинного мозга и перерезки сенсорных (чувствительных) корешков на шее. После этого, наблюдая случаи патологии, многократно убеждались в том, сколь незначительное влияние оказывают на дыхание обширные анестезии кожи и сенсорные параличи.

На первый план выдвинулся чувствительный нерв дыхательных путей и легких Nervus vagus. Постепенно были выяснены механизмы нарушений дыхания после перерезки обоих блуждающих нервов, столь многократно описанных со времен Руфуса Эфесского и Галена; оказалось, что

независимо от паралича гортани у животных с фистулой трахеи отмечается значительное замедление дыхания. Первое одностороннее представление Маршалла Холла о том, что без вагусного рефлекса в качестве посредника раздражающего воздействия углекислоты на легкое непроизвольное дыхание невозможно, было легко отмести; не нашла также подтверждения идея Шиффа, согласно которой после перерезки вагуса дыхание, хотя и с трудом, рефлекторно поддерживают другие чувствительные нервы [15]. Однако, после того как впервые в 1847 г. Траубе удалось путем раздражения электрическим током центрального конца N. vagus добиться повышения частоты дыхательных движений и вызвать судорожное сокращение диафрагмы даже в опытах с предварительным удалением головного мозга, рефлекторные связи блуждающего нерва с дыхательными движениями стали излюбленной темой экспериментаторов. Появился ряд работ, посвященных центральному раздражению блуждающего нерва, с их разнообразными и противоречивыми результатами, работ, которые и по сей день не завершены. Какое-то время казалось, что Розенталь [16] нашел истинного посредника; он сопоставил замедление дыхания при слабом электрическом раздражении вагуса и судорожное сокращение диафрагмы при более сильном его раздражении с замедлением или полным прекращением дыхания, которое вызывает раздражение верхнего гортанного нерва; он пытался доказать, что приписываемые стволу вагуса электрические токи исключительно легко распространяются и на N. laringeus sup., чем и следовало объяснить все виды замедляющего и экспираторного влияния вагуса. Однако, несмотря на это, экспирация и остановки дыхания при раздражении вагуса продолжали появляться. Подобные влияния наблюдались не только со стороны нижнего гортанного нерва [17], но и когда, кроме индукционных токов, применяли целый ряд других раздражений, направленных на центральный конец вагуса; Лангендорф и Кноль [18] получали наряду с инспираторными выраженные экспираторные или по крайней мере инспираторно-блокирующие влияния, значительно более сильные, чем это можно было бы объяснить, ссылаясь на слабое действие N. reccurens. Можно ли было отнести обнаруженную Лангендорфом и Кнолем резкую разницу в действии между механическим и химическим раздражением и между токами из сети и индукционными токами за счет различий в силе и длительности раздражения? По всей вероятности, ствол вагуса получает и, кроме гортанных нервов, волокна, которые способны рефлекторно вызывать вдох, и волокна, которые его подавляют или даже способны активно вызывать выдох.

Однако, прежде чем использовать эти факты для подтверждения теории дыхательных движений, напомним о том, что волокна вагуса, идущие от желудка или других структур брюшной полости, могут рефлекторно влиять на инспираторные и экспираторные мышцы; так бывает при рвоте, при которой главную роль играют диафрагма и брюшные мышцы. Не лишне поэтому привести доказательства, которые свидетельствуют в пользу двоякого рефлекторного действия собственно легочных волокон вагуса. Напомним здесь о явном инспираторном, ускоряющем дыхание

с судорожным сокращением диафрагмы действии, которое получал Кноль [19] после перерезки возвратных нервов у кроликов, производя им трахеотомию на фоне вдыхания паров хлороформа или эфира. Моментальное наступление действия и его отсутствие после ваготомии не оставляют никаких сомнений в рефлекторной природе этого процесса.

Из всех до сих пор имеющихся фактов, касающихся вагуса, для теории нормального дыхания самым непосредственным образом использовались известные прекрасные опыты Геринга и Брейера [20]; эти результаты были в основных чертах подтверждены всеми исследователями, которые не давали своим подопытным животным слишком глубокого наркоза [21]. По данным Геринга и Брейера, у наркотизированного животного при интактных блуждающих нервах любое растяжение легкого независимо от того, вызвано ли оно положительным или отрицательным давлением либо вдуванием воздуха или водорода, сначала тормозит любой вдох, который уже начался или должен начаться, однако затем, особенно при большей степени растяжения, возникает активное наиболее заметное на брюшных мышцах движение выдоха, которое при закрытой трахее постепенно усиливается пока наконец не прерывается глубоким вдохом. Таким образом, нормальное дыхание отличается от замедленного глубокого толчкообразного дыхания, характерного для перерезки блуждающего нерва, тем, что каждый вызванный раздражением венозной кровью вдох сразу же останавливается рефлекторным торможением через вагус, как только достигается известная степень растяжения легкого. Тем самым исходящий из продолговатого мозга дыхательный импульс вынужден реализоваться в большем числе уплощенных дыхательных движений, что позволяет как «экономить» в напряжении мышц, так и избегать излишнего влияния на циркуляторные взаимоотношения в грудной полости. Если же блуждающие нервы перерезаны, не только выпадают эти движения, но и отсутствует известное со времен Траубе приспособление спонтанных дыхательных движений к ритму вдуваний, производимых при искусственном дыхании.

Менее очевидным представляется второй основной результат Геринга и Брейера: любое внезапное уменьшение легкого (будь то возврат раздутого органа к нормальному объему или дальнейшее уменьшение в результате отсасывания, полное спадение при вскрытии грудной клетки или наконец даже отсасывание воздуха из спавшегося легкого) ведет при интактных блуждающих нервах к сразу же возникающему инспираторному движению (вдоху). Хотя это явление и его связь с вагусом точно установлены, едва ли можно представить себе такое анатомическое распределение нервных окончаний, благодаря которому растяжение легочных альвеол и бронхов, с одной стороны, и их спадение — с другой, могли бы оказывать каждое свое самостоятельное возбуждающее влияние. По нашему мнению, следует либо приписать инспираторное влияние вагуса другому, не механическому раздражителю, который, возможно, содержится в выдыхаемом воздухе, либо приходится удовлетвориться самым простым допущением о том, что известная часть инспираторного раздражения, имеющегося в дыхательном центре, всегда компенсируется центрипетальным тормозным влия-

нием имеющегося растяжения, так что лишь после перерезки вагусного пути, через который опосредуется это торможение, инспираторное раздражение проявляется со своей первоначальной силой. Можно себе представить, что истинная форма нервных окончаний определена их анатомическим распределением в не содержащем воздуха легком плода, по сравнению с которым содержащее воздух легкое, даже в спавшемся состоянии, оказывается еще растянутым и потому получающим раздражение. Геринг и Брейер уже указывали на обе эти возможности с помощью особого, правда, не вполне однозначного эксперимента; они даже пытались показать, что через вагус должны поступать и другие, не механические раздражения, так как перерезка вагуса изменяет число сокращений диафрагмы даже тогда, когда перед этим при вскрытии грудной клетки через многократно проколотые легкие пропускают поток воздуха и тем самым исключают какие бы то ни было изменения органа в объеме.

Для того представления, которое мы составили себе относительно характера этих различных влияний вагуса, чрезвычайно важно, прав ли Розенталь [22], когда он, исходя из параметров дыхания или путем сопоставления респираторных кривых, пытается доказать, что работа дыхательных органов до и после перерезки блуждающих нервов распределяется одинаково и лишь временно бывает различной, или правы мы, что мне представляется более справедливым. Мы присоединяемся к мнению Гада [23], который, ссылаясь на преимущественно инспираторную форму дыхательных кривых своих ваготомированных животных, видит в действии вагуса среди прочего снижение инспираторного раздражения, истинное тормозное влияние по аналогии с сердцем лягушки, которое при раздражении вагуса на фоне неизменного давления наполнения сокращается не только реже, но и слабее (Котс).

К сожалению, надо сказать, что и многократно цитированный опыт с апноэ должен был отдать дань вагусу. После того как уже в 1865 г. Тири [24] показал, что вдувание вдвое «разбавленного» водородом воздуха вызывает апноэ, диссертация П. Геринга [25], выполненная под руководством Бухгейма и Шмидеберга, принесла поразительное сообщение о том, что в артериальной крови кошек с апноэ в среднем обнаруживалось не больше кислорода, чем у животных с нормальным дыханием, и что уровень углекислоты был значительно, почти что вдвое, снижен. Когда затем Эвальду [26] из лаборатории Пфлюгера удалось с помощью усовершенствованного метода и тактики улавливать минимальную кислородную разницу (от 0,1 до 0,9%) между артериальной кровью одной и той же собаки при апноэ и в его отсутствии, то оказалось, что кровь бедренной вены значительно беднее кислородом (иногда до $^1/_3$ прежней величины); Эвальд пришел к, казалось бы, парадоксальному выводу, что содержание кислорода в организме в целом скорее уменьшилось, нежели увеличилось.

Эвальд также установил, что содержание углекислоты в артериальной крови снизилось вдвое или даже больше, и приходится лишь удивляться тому, что ни одна из основанных на вымывании углекислоты теорий апноэ не смогла завоевать признания, за которое уже решительно выступал П. Геринг. Вместо этого и не без оснований Эвальд обратил внима-

ние на циркуляторные условия, на значительное падение давления в аорте и снижение работы сердца, вызываемые снижением притока к сердцу под влиянием давления сжатого воздуха. Из-за резко замедленного тока крови последняя оставляла в тканях больше своего кислорода, зато она дольше оставалась и в легких и попадала в мозг с более высоким (на 0,1—0,9%) содержанием кислорода. Так что, когда Пфлюгеру удалось путем мягкого щадящего вдувания воздуха получить апноэ при светло-красной венозной крови, казалось, была подтверждена главная роль избытка кислорода при возникновении апноэ. И когда наконец в 1879 г. Филене [27] убедился в том, что не только венозная, но и артериальная кровь может стать темнее нормальной, прежде чем появится первый дыхательный стимул, именно тогда были выдвинуты совершенно иные взгляды, которые оттеснили на задний план как кислород, так и углекислоту.

Когда, впрочем, Пфлюгер не относившийся без внимания к снижению углекислоты, тем не менее стал склоняться к кислородной теории апноэ [28], то это было связано с идеей, что таким образом в результате повышенного напряжения кислорода создаются условия для более полного разрушения редуцирующих веществ в тканях и впоследствии из-за недостатка таких веществ потребление кислорода снижается [29]; последнее допущение не получило подтверждения в более поздних касавшихся обмена веществ опытах Пфлюгера и его учеников [30].

То, что при апноэ большое влияние оказывают циркуляторные условия, легко понять, если учесть резкое изменение соотношений давления в грудной клетке, как известно, отражающееся на кимограммах. То более темную, то более светлую окраску венозной крови можно объяснить тем, что неосторожное нагнетание воздуха вызывает застойные явления, тогда как при щадящем вдувании, использующем лишь податливость диафрагмы, без помех вступает в действие более распространенная большая или чаще повышенная эластичность легких, которая стимулирует наполнение сердца, а стало быть, и кровообращение. Мы могли бы присоединиться к Эвальду в том, что в опытах с темной венозной кровью замедленное кровообращение, более длительное пребывание крови в легком делают значительно больший вклад в наблюдаемое небольшое увеличение содержания кислорода в крови, нежели небольшое, обусловленное более интенсивным обменом воздуха повышение напряжения кислорода в легких.

Эвальд был склонен преувеличивать значение минимального увеличения количества кислорода в артериальной крови, отмеченного при апноэ; он видел в этом значительное повышение напряжения кислорода, которое после полного насыщения гемоглобина во много раз повышалось за счет физической абсорбции [31]. Но почему же тогда у рабочих в кессонах при значительно более высоком парциальном давлении не наступает апноэ? Почему, спрашивает Гоппе-Зейлер, мы не наблюдаем никакого апноэ при дыхании в условиях чистого кислорода? Собака продолжает нормально дышать, когда в зависимости от условий эксперимента в ее артериальной крови создается повышенное напряжение кислорода и полное им насыщение (Хертер); она может нормально дышать, и когда

емкость насыщения оказывается оставленной далеко позади (на $^1/_{10}$ и более) [32].

И напротив, путем усиленного вдувания воздуха можно добиться основательного «вымывания» углекислоты из крови и тканей, так что в течение многих минут после этого наступает значительное снижение отдачи углекислоты (Финклер и Эртман) и после нескольких часов нормального дыхания содержание углекислоты в крови еще остается ниже исходных значений (Эвальд).

В этом месте нельзя не упомянуть о выполненной в 1869 г. под руководством Дондерса оставленной без внимания диссертации Бернса [38], в которой на табл. VII показаны многочисленные кривые дыхания, записанные у кроликов с точной отметкой времени; эти кривые свидетельствуют о том, как быстро и точно можно купировать закономерно наступившее апноэ путем одного-единственного вдувания углекислоты в начале наступления апноэ или во время него; в контрольном опыте производили механически по возможности такое же вдувание воздуха.

Исходя из собранных и представленных здесь фактов, не подлежит никакому сомнению, что объяснение апноэ на основе избытка кислорода следует считать окончательно и давно оставленным. Если апноэ вообще имеет какое-либо отношение к газам крови, то речь может идти только об углекислоте.

Обращение заново к столь важному для теории дыхательных движений вопросу об апноэ связано, как об этом уже было сказано выше, с рефлекторным влиянием центрипетальных нервов. Обнаруженная еще Розенталем остановка диафрагмы при электрическом раздражении верхнего гортанного нерва должна быть в тех случаях, когда активного выдоха не было, вызвать сравнение с апноэ; точно так же обнаруженное недавно Грэхемом [34] чрезвычайно высокое положение диафрагмы, вызываемое центральным раздражением чревного нерва, при котором, как правило, выдоху активно способствует брюшной пресс, свидетельствует в пользу влияния гортанных нервов. Еще дальше заходит сходство с розенталевским истинным апноэ при рефлекторной остановке дыхания, которую можно вызвать из области распространения концевых ветвей тройничного нерва в полости носа и в определенных участках кожи. Подобные дыхательные паузы длительностью до 20 с вызывал у кроликов Крачмер [35], воздействуя на слизистую носа раздражающими, а именно кислотными, парами. Однако конкретно здесь следует упомянуть так называемый рефлекс погружения — впервые описанная Розенталем и Фальком [36] остановка дыхания при погружении животного в воду любой температуры. В то время как последним упомянутым авторам представлялось, что наиболее действенно смачивание кожи в области сердца, Фредерик [37] получил наиболее длительную дыхательную паузу при опрыскивании ноздрей уже у кроликов и еще более длительную (до 12 мин) — у водоплавающих птиц (уток), где целесообразность этого приспособления для акта погружения особенно бросается в глаза, и возможность столь длительной остановки вполне может быть связана с высоким содержанием гемоглобина в крови.

Что, наконец, имеет отношение к N. vagus, так это все учащающиеся наблюдения экспираторной остановки дыхания путем воздействия на вагус раздражителями, разнообразными по характеру и силе. Чем дальше, тем труднее отдифференцировать все эти разнообразные остановки дыхания и решить, сколько из этих случаев имеют в основе рефлекторное подавление, сколько — слабость дыхательного центра, а сколько — истинное снижение силы раздражения. Как, например, объяснить (Розенбах [38]), что у наполовину обескровленных животных столь легко вызвать состояние апноэ, тогда как нарушенное тканевое дыхание продолговатого мозга должно вести именно к диспноэтическому раздражению. Броун-Секар [39] уже в 1871 г. утверждал, что после двухсторонней перерезки вагуса нельзя вызвать апноэ вдуванием воздуха, а более поздние авторы — Филене [40], Розенбах [38, с. 109] и Кноль [41] — присоединились к его мнению по крайней мере в том, что у этих животных остановка дыхания длительным вдуванием воздуха либо вообще не вызывается, либо бывает неполной (Кноль), либо вызывается с трудом и на короткое время (Филене, Розенбах).

В самом деле Броун-Секар на основании своих, вообще говоря, неудовлетворительных опытов пришел к определенному выводу о том, что обычное апноэ, вызываемое вдуванием воздуха, представляет собой не что иное, как рефлекторное торможение, наступающее под влиянием механического раздражения вагуса; правда, позже [42] он счел, что в этом участвуют также и другие центрипетальные волокна N. phrenicus и других диафрагмальных нервов, что пытался опровергнуть Филене своими опытами с апноэ после ваготомии и перерезки спинного мозга в шейном отделе.

Не столь односторонне высказались в 1877 г. Розенбах [38, с. 112] в пользу участия в апноэ механического раздражения вагуса, и наконец в 1879 г. Гоппе-Зейлер [43] начал решительную кампанию против прежнего значения апноэ и подчеркнул, ссылаясь на опыты Хертера [44], в которых у собак при нормальном дыхании было отмечено повышенное напряжение кислорода и полное насыщение крови кислородом, что в явлении апноэ основную роль должны играть механические моменты. В то время как Гоппе-Зейлер еще много говорил вообще о нарушении и утомлении респираторного аппарата, с этого времени, однако, при участии Гада, Фредерика и Кноля [45] создалось такое представление о состоянии апноэ, которое решительно отличалось от существовавшего прежде. Апноэ вызывается не только свежим воздухом, но и произведенным в условиях интактных N. n. vagi перекачиванием (взад и вперед) из легких в резиновый мешок и обратно становящегося все хуже выдыхаемого воздуха при уже потемневшей крови в левом сердце (Гад [45]). Если же во время апноэ, вызванного вдуванием воздуха, повысить проводимость N. vagus (Гад) внезапным его охлаждением, не сопровождая последнее каким бы то ни было раздражением, апноэ блокируется или становится менее продолжительным. О совершенно особом, не имеющем ничего общего с обычным апноэ торможении дыхательного центра свидетельствует наблюдение Кноля [46] того, что на поздней

стадии более длительной, вызванной вдуванием воздуха остановки дыхания, последнее не возобновляется, хотя появляется не только темная кровь, но и собственно признаки удушья — вазомоторное повышение кровяного давления, замедление пульса и дипноэтическая перистальтика кишечника; ведь даже в опыте Куссмауля — Теннера перевязка сосудов мозга вызывает судороги, но не дыхательные движения.

В результате обзора всех этих фактов апноэ перестало быть для нас тем, чем оно было до сих пор — ясным элегантным школьным экспериментом, иллюстрирующим господствующие теории дыхания; напротив, оно превратилось в сложный, в отдельных случаях с трудом объяснимый процесс. Также и впредь определенную роль будет играть газовый состав крови и, соответственно нашему представлению, именно уровень углекислоты. Даже после выключения влияния вагуса встречается истинное апноэ (apnoea vera), которое, возникая как полная остановка или лишь как ослабление дыхательного стимула, на самом деле обусловлено уменьшением раздражения дыхательного центра углекислотой. Особенно убедительным случаем истинного нерефлекторного апноэ представляется случай, описанный Билецким [47], который создавал у хищной птицы постоянный ток воздуха через легкое и систему воздушных камер, так чтобы при этом степень растяжения легких не менялась. К сожалению, убедительность этого опыта для рассматриваемой нами проблемы несколько снижается тем, что N. n. vagi, по-видимому, оставались интактными.

Наряду с таким истинным апноэ (apnoea vera) у интактных животных при ритмическом вдувании воздуха никогда полностью не исключается исходящий от волокон вагуса тормозный рефлекс — apnoea vagi, которое бывает выражено то сильнее, то слабее в зависимости от достигнутой степени растяжения легкого и от частоты вдуваний, что определяет кумулирование медленно угасающих раздражений вагуса (Гад). Apnoea vagi является опять-таки особым случаем экспираторной остановки дыхания, вызываемой влиянием гортанных нервов, волокон тройничного нерва, иннервирующих полость носа, и, возможно, других нервов, остановки, которую мы можем назвать единым термином Apnoea spuriae (ложное апноэ, псевдоапноэ).

Применительно к Apnoea vera реакция дыхательного центра зависит не только от силы раздражающего действия углекислоты на ганглиозные клетки, эта реакция является, кроме того, функцией возбудимости. Для создания последней необходимо прежде всего поступление кислорода; она в значительной степени зависит, кроме того, от глубины наркоза, температуры и от других факторов, влияющих на жизненную энергию; как и во всех других случаях, раздражение и возбудимость и здесь идут рука об руку.

Противоречивость данных о влиянии на дыхательный центр циркуляторных нарушений или асфиктических свойств крови объясняется тем, что раздражение может нарастать медленнее, чем снижаться возбудимость, и наоборот.

На предыдущих страницах мы попытались не предвзято показать, как отдельные факторы, участвующие в регуляции дыхания, выглядят в свете старых и новых исследований. Далее возникает вопрос: какая общая картина регуляции дыхания создается из этих отдельных черт? Здесь должна представиться еще одна возможность — поставить один важный вопрос, который до сих пор не обсуждался, а именно вопрос об определенном соотношении между недостатком кислорода и углекислотой как возбуждающими факторами при различных степенях и условиях дыхательной функции. При этом нам следует провести различия между задачей объяснения симптомов нарушения газообмена, т. е. явлений удушья, с одной стороны, и проблемой нормального дыхания — с другой.

Ключ к пониманию регуляции дыхания наряду и прежде всего с апноэ искали в процессах, которые при различных видах удушья разыгрываются в органах дыхания и кровообращения; ими преимущественно и занимались исследователи. После того как со времени Вильгельма Мюллера и Траубе, изучавших двойственный характер дыхания в закрытом помещении, было отведено место особым экспериментам по влиянию недостатка кислорода и CO_2-смесей, содержащих достаточное количество кислорода, после того как для кислорода были найдены верхние, а для углекислоты — нижние значения парциального давления, вызывающего одышку, а также смертельные, после того как нарушения газообмена были прослежены до газов крови, после того как были исследованы циркуляторные последствия нарушения аэрации крови, появилась возможность обрисовать достаточно точную картину удушья в той мере, в какой это относится к нервным центрам, сердцу и сосудам.

На сегодняшний день все исследователи, принимавшие участие в изучении нашего вопроса, указывают на то, что подопытные животные раньше отвечают одышкой (диспноэ), т. е. усилением дыхательных движений, если к их легким подводится углекислота в смеси с достаточным количеством кислорода, чем в случаях, когда они вдыхают или индифферентный водород с небольшим количеством кислорода, или вовсе без него. Первое по-настоящему точное заключение об обоих видах смеси было сделано в остающейся до сих пор основополагающей работе Домена [8] из лаборатории Пфлюгера (1864); большая работа Бера «Sur la pression barométrique» является неиссякаемой сокровищницей хорошо продуманных экспериментов, собственных и чужих наблюдений и накопленного опыта разнообразного характера, касающихся нашей области; весьма ценные данные об изменениях кровяного давления и дыхания с точным анализом действующих газовых смесей составили в конце концов опубликованные в 1878 г. работы Фридлендера и Хертера [10].

У кроликов диспноэ (одышка) выражается прежде всего в углублении дыхательного стимула и отсюда в значительном увеличении глубины дыхания; хотя в противоположность тому, что повседневно наблюдается на людях, прирост числа дыхательных движений в значительной мере может иметь место, однако далеко не с таким постоянством, с каким наблюдается рост глубины дыхания, во всяком случае, первая в большей степе-

ни подвержена влиянию чувствительных или психических раздражений. Быть может, в экспериментах Домена, если подходить с позиций данных Кёлера [48], полученных при механических нарушениях дыхания, значительное сопротивление клапана и водяного столба приводило к тому, что у его кроликов, находившихся в атмосфере водорода, азота или смеси этих газов с воздухом, почти не наблюдалось учащения дыхания, а в смеси углекислоты с кислородом — лишь быстро переходящее повышение частоты в первые минуты; в опытах же Фридлендера и Хертера, когда кролики задерживались под стеклянным колпаком без какого бы то ни было сопротивления дыханию, в условиях длительной нехватки кислорода и при не слишком внезапном сильном воздействии углекислоты (в замкнутой атмосфере кислорода), по крайней мере вначале наблюдалось увеличение числа дыханий. Как указывает Тири, а также подчеркивает Траубе [49], как Мюллер и позднее Розенталь могли из-за сопротивления использованных ими ртутных клапанов вообще не наблюдать одышки (диспноэ), вызываемой углекислотой, и потому они либо отрицали действие углекислоты, которое ведь никогда и не ведет к сильным явлениям раздражения, либо, как это до сих пор делает Розенталь [50], отводили ему второстепенное место. Кислородной недостаточности и углекислоте присуще далее известное влияние на кровообращение — сокращение сосудов.

Из этого следует повышение давления в аорте, которое в свою очередь также стимулирует сокращение сердца, при возможном участии Nn. accelerantes.

Несмотря на это отмеченное, особенно в начальной стадии, сходство, приходится окончательно отказаться от столь многократно предпринимавшейся попытки объяснять действие углекислоты, исходя из кислородной недостаточности или наоборот. Ни кислородная недостаточность не препятствует выходу углекислоты, ни углекислота не препятствует насыщению крови кислородом, что было доказано Пфлюгером еще в 1868 г. путем сравнительного анализа крови собак, погибших от удушья в атмосфере азота и отравленных в условиях высокого давления углекислоты. Опытами Покровского [51] была отвергнута также попытка связать удушье (диспноэ) при отравлении окисью углерода, столь быстро поглощающей кислород, с накоплением углекислоты, обусловленным анемией мозга из-за первичной сердечной слабости; удушье, вызванное окисью углерода (угарным газом), возникает очень рано при высоком кровяном давлении и вполне достаточной деятельности сердца. С пресловутыми бульбарно-вазомоторными теориями, которые пытаются проникнуть и в этом направлении, мы можем совершенно не считаться, ввиду того основополагающего факта, что действия кислородной недостаточности и углекислоты сходны лишь в самом начале, т. е. при их слабой степени, в дальнейшем же течении процессов они далеко расходятся. Все внимательные наблюдатели — Мюллер, Домен, Бер, Фридлендер и Хертер — единодушно сообщают, что ниже определенного значения парциального давления кислорода, вокруг которого колеблются все имеющиеся данные, сначала наступает усиленное дыхание, затем — резко выраженное уду-

шье, притом в момент, когда еще имеется 3—4% кислорода и когда еще сохранены сознание и рефлексы, возникают судороги удушья, за которыми после короткой паралитической стадии непосредственно следует смерть. В противоположность описанному весьма умеренное парциальное давление углекислоты, которое может быть даже меньше нормального в выдыхаемом человеком воздухе [52], значительно усиливает дыхание; 10—12% уже вызывают заметное удушье с более глубоким вдохом и активным выдохом, и, если обеспечить постоянство такого уровня углекислоты, так может продолжаться некоторое время; если же уровень углекислоты повышается, то одышка, не переходя в судороги, сменяется углекислотным наркозом, при котором животное лежит без сознания, в состоянии паралича, со все более редкими и более поверхностными дыхательными движениями, и наконец наступает состояние псевдосмерти (ложной, кажущейся), из которого, однако, еще в течение довольно длительного времени животное может быть выведено вдуванием свежего воздуха, тогда как при удушье, вызванном внезапной кислородной недостаточностью, почти сразу же вслед за последним дыхательным движением животное безвозвратно потеряно.

Представляет интерес сообщенный недавно Бернштейном [53] и подтвержденный респираторными кривыми следующий факт: воздушная смесь, содержащая 15% CO_2, у ваготомированных, а иногда и у нормальных кроликов усиливает преимущественно выдох, тогда как вдыхание водорода, т. е. кислородная недостаточность, вызывает главным образом инспираторную одышку. Вряд ли можно пожелать себе более элегантное доказательство того факта, что недостаточность углекислоты и кислородная недостаточность влияют на дыхательный центр независимо друг от друга.

То, что далее повышенное парциальное давление углекислоты действует на дыхательный центр непосредственно как химическое раздражение, а не косвенно через угнетение того или иного метаболического процесса, представляется нам отчетливо вытекающим из произведенных Бернсом [54] измерений интервала времени между вдуванием углекислоты и наступлением первого усиленного дыхательного движения. При этом я имею в виду «непрямое» действие по Бернсу, которое происходит из дыхательного центра, а не «прямого» рефлекторного предшественника, оспариваемого Кнолем [19]. Это центральное действие возникает у кроликов в форме изменения спонтанного типа дыхания через 1,7—2,6 с, а в форме укорочения апноэ, при котором механический фактор исключается контрольным экспериментом, через 1,3—2,1 с, т. е. настолько быстро, что кровь легких едва достигает продолговатого мозга; для накопления какого бы то ни было продукта обмена, который еще должен образоваться, просто не остается времени. Было бы интересно, хотя это и нелегко, попытаться сделать подобные определения и для кислородной одышки, для которой дело, по-видимому, обстоит иначе. Представление о том, что незначительные отклонения в содержании углекислоты действуют непосредственно как раздражитель или усиливают уже имеющиеся раздражители, не может более никого удивить после прекрасных новейших исследований Пфеффера

«О направленных движениях, вызванных химическими раздражителями» [55], которые доказали столь выраженную тонкоградуированную возбудимость протоплазмы многих клеток в отношении известных разбавленных кислот; по аналогии с его данными о влиянии различий в концентрации вполне можно подозревать, что именно при низком парциальном давлении CO_2 определенное отклонение этой величины может оказаться особенно действенным.

Мы можем далее задать вопрос, достаточны ли эти знания об удушье для того, чтобы сразу же получить ясную картину о совместном действии всех факторов при нормальном дыхании. Если мы обратимся к учебникам и современной медицинской литературе, то там, где речь идет о регуляции дыхания, мы не найдем единого мнения. В них приводится принадлежащая Розенталю кислородная теория одышки и апноэ, тогда как наши климатологи, опираясь на многократно обсуждавшиеся описанные Бером анализы крови, высказывают гипотезы о лечебном действии наших высокогорных курортов, где парциальное давление кислорода на 20—30 мм рт. ст. ниже. Наряду с этим Френкель и Гепперт [56] отметили, что в разреженном пространстве при парциальном давлении кислорода, которое было на $^2/_5$ ниже нормального, содержание кислорода в крови оказалось несниженным, а дыхание — неизмененным. Другие, опираясь на данные Траубе, больше говорят об углекислоте; эти должны испытывать некоторое неудобство от того, что, по Бернштейну, углекислота будет оказывать экспираторное действие, тогда как мы знаем, что подъем на каждую ступеньку лестницы сразу же заставляет нас дышать глубже. Более осторожные допускают, что кислородная недостаточность и углекислота вместе дружно регулируют дыхание, как если бы они были одинаковыми и аналогично действующими факторами. Что касается вагуса, то до сих пор лишь опыты Геринга и Брейера по вдуванию могут быть использованы в наших рассуждениях о нормальных дыхательных движениях; после того как Кноль исключил из общего курса данные Бернса о рефлекторном возбуждающем действии углекислоты, учение о нормальном дыхании, несмотря на гипотезы Траубе, просто не знает, как использовать всю область, касающуюся инспираторных влияний вагуса. Должны ли действительно эти неопределенные нечеткие наброски теории нормального дыхания стать результатом тридцатилетнего труда стольких превосходных исследователей? Или, быть может, просто недостает правильно поставленного вопроса, чтобы и в этой области получить однозначный ответ?

Для чего существует нормальное дыхание у человека и животных, при каких условиях, в пределах каких границ оно функционирует с незапамятных времен, прежде чем физиологи стали предъявлять к нему все свои возможные и невозможные требования? Сколь плохо приспособлен наш глаз взирать на вольтову дугу или смотреть сквозь призматические очки, столь же мало пригоден наш дыхательный аппарат к смеси, содержащей 15, 30 и 50% углекислоты, к дыханию в чистом водороде, к существованию под колпаком воздушного насоса или к вдуванию какого-либо газа. Мы могли бы сказать, что своими опытами с удушьем и перерезками

нервов мы грубым вмешательством разложили механизмы дыхания и многое благодаря этому выяснили, но, чтобы снова мысленно воссоединить этот аппарат, нам отныне в большей мере, чем это было до сих пор, надо понаблюдать за работой этих «часов» при их ненарушенном ходе, в условиях, по возможности наиболее близких к нормальным. Именно такая позиция заставляет нас снова обратиться к точным и тщательным исследованиям дыхания человека, которые в течение 40 лет проводил недавно умерший заслуженный ученый — Фирордт.

Если сейчас мы по-иному подходим к задачам подобного рода, то этим мы обязаны не только тому, что учение о дыхании с тех пор сильно обогатилось фактическим материалом, но и тому, что теперь каузальным принципом исследований органического мира стало дарвиновское учение о естественном отборе. Как, по Гельмгольцу [57], противоречие между оптическими ошибками и практическим совершенством глаза исчезает, как только мы принимаем, что орган не создается для его функции, а возникает благодаря этой функции, так и неясности и парадоксы нашего учения о дыхании исчезнут, а факты в конце концов сольются в единую гармоническую картину, как только мы поставим эксперимент и рассуждения в соответствии с теми условиями и требованиями, в которых с давних времен функционирует дыхательный аппарат и которые, согласно нашим представлениям, взаимодействовали в процессе его становления.

Из внешних условий учитывается прежде всего тот диапазон, в пределах которого колеблется парциальное давление кислорода под влиянием атмосферных потоков и подъемов почвы, тогда как чрезвычайно редкие случаи значительного повышения содержания углекислоты в воздухе, естественно, остаются без внимания. Из внутренних условий в первую очередь должно быть удовлетворено требование энергичного мышечного напряжения, по сравнению с которым повышение газообмена в результате пищеварения и всасывания, отдачи тепла и сенсорных раздражителей отходит на задний план. К действенным внутренним факторам относятся, однако, также все те события, которые, неоднократно повторяясь на протяжении жизни вида, временно затрудняют дыхание. Так, возможно, влияние беременности сказывается в совершенствовании реберного дыхания. Даже опасности при появлении на свет, с которыми связан акт родов, принимают участие в формировании известных поразительно целесообразных явлений, характерных для циркуляторного аппарата при асфиксии.

Столь обоснованным и необходимым представлялось далее испытать в раздельных экспериментах влияние кислородной недостаточности и углекислоты; если не считать подъема на высокую гору, то у животных в природных условиях не бывает частых случаев, когда не со стороны обоих газов одновременно предъявляются повышенные требования к дыханию при длительном соотношении, соответствующем дыхательному коэффициенту, от которого возможны кратковременные отклонения. Не должны ли существовать еще какие-то особые связи между кислородной недостаточностью и накоплением углекислоты, независимое друг от друга влияние которых столь настоятельно подчеркивалось?

Как к новой машине, так и к органическому аппарату, отрегулированным на равномерную работу, обращен первый вопрос: каков тот фактор, от которого добиваются постоянства или равномерной периодичности, и какие факторы, с другой стороны, играют роль вспомогательных членов, способствующих достижению этого равномерного хода, подгоняя свое непостоянство для компенсации неизбежных внутренних и внешних помех? И то и другое вместе не могут выполняться одной деталью без ущерба для совершенства регулирования. Не пришло ли время сформулировать этот вопрос в более острой форме в отношении главных компонентов легочного газообмена?

Если мы вспомним, с какой быстротой ведет к смерти вдыхание чистого водорода, тогда как высокое содержание углекислоты, никогда не достигаемое при удушье (асфиксии), убивает лишь медленно, «ползком», так что столь быстрое смертельное течение анемии мозга Куссмауля — Теннера приходится объяснять кислородной недостаточностью, и если мы далее напомним о важнейших исследованиях Эрлиха [58], показавших, что мозг относится к органам, сравнительно насыщенным кислородом, не наведет ли все это на мысль о том, что главная цель дыхания состоит, пожалуй, прежде всего в том, чтобы при всех обстоятельствах гарантировать мозгу доставку необходимого минимума кислорода, а не в том, чтобы, выполняя какую-то второстепенную задачу, «играть с ножом над нитью жизни»? С другой стороны, на роль регулятора вполне годится углекислота с ее выраженным стимулирующим действием даже в больших разведениях и при той медлительности, с которой значительное ее накопление может оказаться угрожающим для жизни.

В этой связи мне представилось интересным исследовать, какова чувствительность дыхания человека к изменениям напряжения углекислоты, и, чтобы исключить влияние изменений вредного пространства и неполного перемешивания воздушных слоев, я попытался исследовать непосредственно альвеолярный воздух, беря его пробу в тот момент, когда ограниченный объем дыхательного воздуха в результате его вдыхания и выдыхания настолько ухудшался, что на регистрируемой кривой дыхания появлялись первые глубокие дыхательные движения. Дыхание осуществлялось при зажатых ноздрях через плотно пригнанную маску с использованием герметического ящика на 25 л, последний был соединен по типу аэроплетизмографа Гада с обычным хорошо откалиброванным спирометром, звонок которого снабжен писчиком. Сопротивление субъективно почти или вовсе не ощущалось, водяной манометр у маски показывал при умеренно усиленном дыхании: почти никаких отклонений. Ящик наполнялся либо чистым воздухом, либо (1—1,5%) углекислотой, либо с добавлением к последней нескольких объемных процентов кислорода; во избежание влияния психики маску соединяли с двумя одинаковыми аппаратами и переключали с помощью крана; при третьем положении крана испытуемому подавался чистый воздух. Опыт ставился таким образом, чтобы испытуемый не знал, дышит ли он чистым воздухом или содержащим углекислоту, подается ли воздух после паузы из свежего ящика или из бывшего в употреблении. Первые углубленные дыхательные движения

в этих различных случаях появлялись через различные промежутки времени и преимущественно, а часто исключительно в форме усиления вдоха, лишь при значительно повышенном содержании углекислоты отмечалось ощущение некоторого напряжения брюшных мышц. Для получения пробы воздуха под постоянным контролем регистрации респираторной кривой в последней фазе углубленного выдоха, который соответствовал минимально 400 см^3 воздуха, ящик сразу отключали и открывали кран связанного с маской безвредного пространства, находящегося в ванне ртутного газометра Бунзена. При этом около секунды испытуемый продолжал выдох в условиях поддержания положительного давления (резервный воздух). Анализ газов производили по Бунзену с использованием длинных поглотительных трубок, как правило, двукратно.

Я оставляю за собой право изложить в другом месте подробности этого и других опытов по газообмену в легких человека. Здесь нас интересует прежде всего результат, показавший, что почти во всех случаях, когда проба воздуха действительно была взята после первых двух-трех усиленных вдохов, полученный для анализа воздух содержал от 6,0 до 6,4% углекислоты (в сухом состоянии?) даже тогда, когда содержание кислорода было на несколько процентов выше, чем в обычном выдыхаемом воздухе. Полученные значения CO_2, однако, еще завышены, так как ради уверенности дожидались двух-трех усиленных дыхательных движений. Поскольку мы должны были считать действие центральным, нам ничего другого не оставалось; за то время, пока кровь достигала мозга, воздух мог еще ухудшиться. Если удается полностью устранить столь незначительное сопротивление, то перед нами лишь тогда, возможно, откроется тончайшая функция дыхательного аппарата, при которой раздражение углекислотой, играя роль микрометрического винта, устанавливает степень дыхательной функции и по сравнению с которой момент, выбранный нами для анализа воздуха, следует считать соответствующим весьма грубой одышке. Оставим точное определение десятичных значений более поздним исследованиям и сравним состав альвеолярного воздуха при спокойном дыхании, для которого, кроме полученной Фирордтом [59] средней цифры 5,43%, я располагаю еще двумя собственными величинами — 5,35 и 5,28%; при сравнении мы придем к выводу, что уже довольно сильно выраженное диспноэтическое усиление дыхательных движений становится видимым при повышении содержания углекислоты в легочном воздухе менее чем на 1%; весьма возможно, что вся тонкая спокойная «игра», лежащая в основе приспособления к незначительным изменениям обмена в зависимости от температуры, приема пищи и т. п. протекает в пределах колебаний содержания углекислоты в несколько десятых процента. Если бы изменение содержания кислорода должно было бы конкурировать с этим по тонкости влияния, то нашим дыхательным движениям пришлось бы существенно изменяться с изменением показаний барометра при перемене погоды, не говоря уже о подъемах даже на незначительную высоту.

Здесь уместно упомянуть, что, несмотря на критику Кноля, направленную против Бернса, мы все еще не считаем отвергнутым столь многократно со времени Маршалла Холла и Траубе предполагавшееся, но ни

разу не доказанное инспираторное возбуждение вагуса нормальным напряжением углекислоты; тонко отрегулированное слабое раздражение, которое, однако, осязаемо вмешалось бы в сбалансированное взаимодействие возбуждающих и тормозящих сил, вполне могло бы ускользнуть от нас при наших до сих пор довольно грубых экспериментах. Подобно многим исследователям дыхательных движений, мы также противимся тому, чтобы признать состоятельной и законченной любую теорию нормального дыхания, в которой рядом с тормозящим и экспираторным вагусным рефлексом не занимает своего необходимого места и инспираторный вагусный рефлекс.

Очень большое значение придавалось вопросу о том, происходит ли и при каких обстоятельствах полное насыщение крови кислородом, и несомненно наиболее важным оказалось приведенное Френкелем и Геппертом (вопреки Беру) доказательство того, что еще при давлении воздуха 42 см артериальная кровь имеет нормальный газовый состав; это доказательство согласуется с данными Мюллера [60] и всех более поздних авторов относительно дыхания в атмосфере с пониженным содержанием кислорода. Избыток напряжения кислорода в альвеолярном воздухе по сравнению с напряжением, соответствующим диссоциации оксигемоглобина, является тем защитным валом, который в определенных пределах охраняет людей и животных от последствий колебаний давления воздуха. Как ни мало я возражал против данных Хертера о высоком напряжении кислорода в артериальной крови собак при нормальном дыхании, однако после заведомо точных опытов, проведенных в лаборатории Пфлюгера, были найдены значительно менее надежные, существенно между собой различающиеся степени насыщения [61], не говоря уже об анализах Бера и др. При объяснении апноэ ссылались на повышенное количество, а еще больше на повышенное парциальное давление кислорода и его действие на мозг [31].

В противопоставление этому я должен подчеркнуть, что значительно важнее было бы знать, какова кровь, оттекающая от мозга, чем выяснять, содержится ли в притекающей к мозгу крови на 0,1, или 0,9%, или даже на 2% больше кислорода. То небольшое количество кислорода, которое могло быть физически адсорбировано, с восстановлением признаков сознания утрачивается, а с этим рушится и весь «карточный домик» теории более высокого напряжения кислорода. Для показателя напряжения кислорода вблизи нервных клеток значительно более важна некая средняя величина из отдельных напряжений всех соседних кровеносных путей, внутри которых одновременно со степенью насыщения снижается и напряжение кислорода в направлении от артерий к венам. Из-за большей поверхности венозного русла это напряжение, благоприятное для дышащих клеток, стоит значительно ближе к напряжению кислорода венозной крови, чем артериальной. Именно та кровь, которая, медленно протекая в легких, способна почти полностью насыщаться, не только химически, но и физически вызовет обеднение мозга кислородом; если же сердце быстро прогоняет кровь через легкие, так что она из-за скорости получает на 1—2% меньше кислорода, мозг будет наслаждаться избытком возду-

ха. Если бы мы располагали удобным и точным методом выявления даже незначительных колебаний самой по себе небольшой разницы в насыщении, то мы нашли бы преимущественный метод, позволяющий проследить определенные изменения скорости общего кровотока. Исходя из моей точки зрения, что скорость кровотока в конце концов определяет все эти соотношения, мы должны согласиться с тем, что кровь горного жителя, возможно, иногда несколько больше отстает в насыщении, чем кровь жителя долины при одинаковом кратковременном повышении сердечной деятельности, причем это не имеет существенного значения.

Тем не менее и у здорового человека встречаются известные состояния кислородной недостаточности мозга; головокружение, состояние общей слабости, подобное обморочному, после форсированного мышечного напряжения, а также высотная болезнь как раз к ним и относятся; как сейчас почти общепризнано, эти состояния являются симптомами сердечной слабости, показателем того, что сердце отказывает и нуждается в покое, и не имеют никакого отношения к напряжению кислорода в легких, если не считать случаев нахождения очень высоко в горах.

Правда, по Мюллеру, Домену, Беру, Фридлендеру и Хертеру, все же встречается одышка, вызванная кислородной недостаточностью, которая возникает, как только неполное насыщение гемоглобина кислородом перестает компенсироваться повышением скорости кровотока. Если мы в свое время признали твердо установленным тот факт, что такая одышка представляет собой самостоятельное явление, то этим не исключается возможность и даже вероятность наличия более глубокой близости между обоими воздействиями: возможно, остающиеся несгоревшими СО—ОН-группы молекул протоплазмы или, быть может, особые, только что образовавшиеся кислоты оказывают, подобно углекислоте, возбуждающее действие. Как, однако, недостаточна, как плохо отградуирована эта «самопомощь» при кислородной недостаточности, как быстро за первыми симптомами возбуждения следуют предвестники смерти! Влияние кислородной недостаточности на мозг как результат нарушения кровообращения общей или локальной природы, несомненно, играет большую и порой роковую роль, и опыты Куссмауля—Теннера показывают, что и при этом возможна стимуляция усиленных дыхательных движений. Однако в тех случаях, когда при нормальных условиях из-за внезапного усиления потребления кислорода может возникнуть опасность слишком быстрого поглощения в легких, всегда вступает упомянутое повышение деятельности сердца и скорости кровотока и меняет угрожающее мозгу влияние в большинстве случаев даже на обратное; так это бывает при усиленной мышечной работе и сильном сенсорном возбуждении.

Как только какая-то более обширная мышечная группа вовлекается в деятельность и первые порции потемневшей венозной крови достигают легких, еще до того как кровяные тельца начинают минимально повреждаться при насыщении, углекислота проявляет свое действие и уже готовит свой авангард к наступающим позднее усиленным одышкой дыхательным движениям, эти в свою очередь механическим путем, а возможно, и другими способами влияют на органы кровообращения, однако

еще в большей степени само мышечное движение влияет на наполнение сердца и задыхающийся при подъеме на гору горожанин-турист даже не подозревает, что именно сейчас он занят тем, чтобы промыть свой уставший мозг кислородом и послать живительный воздух в удаленные от кровотока уголки, где чахнут нервные клетки, находясь в состоянии полуудушья.

Так, углекислота простирает свои защитные крылья над кислородной потребностью организма; особенно она «заботится» о мозге, который у теплокровных по неизвестным причинам не может ни на мгновение оставаться без воздуха, тогда как кожа и мышцы способны на протяжении получаса переносить ишемию, вызываемую жгутом Эсмарха. Еще многое предстоит сделать для изучения особых вазомоторных приспособительных механизмов, которые, по-видимому, закономерными этапами запускаются в действие при различной степени напряжения углекислоты.

Для надежности и четкости (тонкости? изящества?), с которыми углекислота выполняет свою задачу, весьма полезно, чтобы легкие работали не слишком энергично и чтобы артериальная кровь в норме поступала бы к дыхательному центру с довольно значительным напряжением углекислоты, изменение которого при обмене веществ в ткани мозга было бы относительно не очень важным. Сама природа химических превращений в нервной ткани, по-видимому, предусматривает лишь незначительное образование углекислоты. Если бы только что высказанное предположение подтвердилось, то этим обеспечивалась бы сравнительная независимость раздражения дыхательного центра от кровотока в мозгу (в противоположность зависимости от кислорода) и в известных пределах раздражение дыхательного центра регулировалось бы напряжением CO_2 в артериальной крови и не зависело бы от количества углекислоты, т. е. от количества крови. При том, что дыхательные движения так легко поддаются психическим и рефлекторным влияниям, для отношений зависимости, при которых каждое незначительное колебание работы сердца и мозгового кровотока должно тотчас же сказаться на респираторных кривых, нормальное дыхание, как мне кажется, остается слишком правильным; я считаю обрисованный выше приспособительный механизм весьма реальным, правда, эта точка зрения требует еще более тщательной проверки.

Кроме того, углекислота — это яд, и должно быть обеспечено ее удаление. Однако даже при угнетенном дыхании или при избыточном повышении образования углекислоты последняя со своими «притязаниями» не слишком выдвигается на передний план; как только при усиленной мышечной нагрузке кровь с повышенным против нормы напряжением углекислоты попадает в большой круг, начинается обратная диффузия в соки (жидкости?) и ткани и, в то время как напряжение CO_2 в легких сохраняется в умеренных пределах, массы углекислоты распространяются по всему телу, откуда она при восстановившемся состоянии покоя снова поступает в кровь и на протяжении всего этого времени поддерживает усиленное дыхание как последствие мышечной нагрузки.

Однако углекислота «не бросает организм на произвол судьбы» и в часы серьезной опасности, когда — будь то в момент рождения или в

дальнейшей жизни — ему угрожает асфиксия. Здесь речь идет о том, чтобы при малом запасе кислорода в крови, а у новорожденного и в легочном воздухе правильно «вести хозяйство» и прежде всего обеспечивать тот орган, который с помощью дыхательного и сосудодвигательного центров управляет жизнью и который сам в любой момент нуждается, пусть в небольшом количестве воздуха, т. е. сердце, без нагнетающей силы которого мозг должен был бы беспомощно погибнуть от асфиксии.

Наконец вступают в действие удивительным образом распределенные возбуждения различных вазомоторных центров, благодаря которым сосуды кожи расширяются, а артерии органов брюшной полости настолько суживаются, что, несмотря на расширение первых, артериальное давление повышается, пока его не понизит одновременно вызванное одышкой раздражение вагуса. Такое изменение распределения крови происходит не зря. Заявление о том, что газообмен органа зависит только от раздражения и функции, но в значительных пределах не зависит от кровотока, относится прежде всего к мышцам и нервной системе, в отношении других органов в данном случае еще не хватает доказательств. Существуют сосудистые области, для которых характерна особая жадность к кислороду [такие, например, как система воротной вены и прежде всего печень с ее редуцирующей активностью (Эрлих), химизм которой в весьма малой степени подчиняется сдерживающему влиянию нервной системы] и которые буквально «пожирают кислород» из протекающей крови. Когда, например, Цунц [62] обнаружил в опытах на кроликах, что после дачи больших доз глауберовой соли потребление кислорода повысилось на 10—15%, мог ли он объяснить это проще, чем за счет усиленной «работы кишечника и его желез». А это означало, что раздражающее действие пищи вызывает гиперемию кишечника и усиление кровотока через «жадную к кислороду» печень.

Наряду с этим существуют «скромные» сосудистые области, как, например, сосуды кожи, из которых кровь, служащая главным образом для тепловой регуляции, бóльшую часть своего кислорода возвращает в сердце. Чем больше крови проходит через кожу, тем больше сберегается кислорода, который еще раз может быть доставлен к мозгу; этим объясняется благотворное влияние тепловой ванны при угрожающей асфиксии [63]. Печень и кишечник, избыточно васкуляризированные с учетом потребностей при всасывании и «привычные» к резким колебаниям, так же как и поджелудочная железа, которые и без того в неактивном состоянии мало снабжаются кровью, могут вынести некоторое время резко сниженное кровоснабжение.

Если все не обман, то именно в том, чтобы сберечь кислород для мозга и сердца, и состоит телеологический принцип вазомоторных реакций на асфиксию. Второй сберегающий момент наступает позже, когда асфиксия развивается медленно при значительном запасе воздуха в легком, тогда в результате обратной диффузии напряжение углекислоты в нервных центрах достигает таких значений, при которых проявляется ее наркотическое влияние; как следует из работ Рауля и др. [64], оно ведет к тому, что обмен веществ и потребление кислорода в тех органах, которые находятся

под прямым нервным влиянием, весьма значительно падают, согласованно снижаются до минимума активность нервных центров и соответственно их потребность в кислороде. Таким образом, углекислота «прилагает все усилия», чтобы по возможности дольше теплилась последняя искра, которую спасительное дуновение могло бы снова раздуть, вернув организм к жизни.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Gierke.* Pflüger's Archiv für die gesammte Physiologie u.s.w. Bd. VII, S. 538.— *Rokitansky.* Wiener Medicinische Jahrbücher. 1874. S. 30.— *Schroff.* Ebenda. 1875. S. 319.— *Langendorff und Nitschmann.* Dies Archiv. 1880. S. 518.— *Kronecker und Marckwald.* Ebenda. 1879. S. 593.— *Frédericq.* Ebenda. 1883. Suppl.-Bd. S. 51.
2. *Schwartz.* Die vorzeitigen Athembewegungen. Leipzig, 1858.
3. *I. Rosenthal.* Die Athembewegungen und ihre Beziechungen zum N. vagus. Berlin, 1862. S. 2 ff.
4. *A. W. Volkmann.* Müller's Archiv. 1841. S. 342.
5. *Vierordt.* Wagner's Handwörterbuch. Bd. II. S. 912.
6. *Traube.* Gesammelte Beiträge zur Pathologie und Physiologie. Bd. I. S. 282 und 452.— *Marcuse.* De suffocationis imminentis causis. Diss. inaug. Berolini 1858.— Allgemeine medicinische Centralzeitung. Mai 1862.
7. *Rosenthal.* a.a.O. S. 3.
8. *Dohmen.* Pflüger's Untersuchungen aus dem physiologische Chemie. Bd. II. S. 99. Bd. III. S. 19.
9. *P. Bert.* Sur la pression barométrique. 1878, p. 706 et 994.
10. *Friedländer und Herter.* Zeitschrift für physiologische Chemie. Bd. II. S. 99. Bd. III. S. 19.
11. *Rosenthal.* In Hermann's Handbuch der Physiologie. Bd. IV. 2. Abth. S. 265.
12. *Rosenthal.* Athembewegungen. S. 158.— Reichert und du Bois-Reymond's Archiv. 1865. S. 191.
13. *Thiry.* In Recueil des travaux de la société médical allemande. Paris, 1865. S. 59.
14. *Rosenthal.* Studien über Athembewegungen. II. Reichert und du Bois-Reymond's Archiv. 1865. S. 191.
15. *Schiff.* Lehrbuch der Muskel- und Nervenphysiologie. S. 413. Vergl. später eine verwandte Anschauung bei Traube, Gesammelte Beiträge. Bd. II. S. 890. und Berliner klinische Wochenschrift. 1869. N 27.
16. Athembewegungen. S. 132.— du Bois-Reymond's Archiv. 1881. S. 61.
17. *Burkart.* Pflüger's Archiv u.s.w. Bd. I. S. 107.
18. *Langendorff.* Mittheilungen aus dem Königsberger physiologischen Laboratorium. Königsberg, 1878. S. 33.— du Bois-Reymond's Archiv. 1879. Suppl.-Bd. S. 48.— *Knoll.* Wiener Sitzungsberichte. Bd. LXXXVI. Abth. 3.— Gad. du Bois Reymond's Archiv. 1881. S. 538.
19. *Knoll.* Wiener Sitzungsberichte. Bd. LXVIII. Abth. 3.
20. Ebenda. 1868.
21. *Guttmann.* du Bois Reymond's Archiv. 1875. S. 502.— Lockenberg. Arbeiten aus dem Würzburger physiologischen Laboratorium ed. A. Fick. Lfg. II. S. 199.— *Gad.* du Bois-Reymond's Archiv. 1880. S. 23.
22. *Rosenthal.* Athembewegungen. S. 93.— du Bois-Reymond's Archiv. 1880. Suppl.-Bd. S. 45.
23. *Gad.* du Bois-Reymond's Archiv. 1880. S. 15.
24. *Thiry.* a.a.O. S. 59.
25. *P. Hering.* Zusammensetzung der Blutgase während der Apnoe. Dissertation. Dorpat, 1867.
26. Pflüger's Archiv u.s.w. Bd. VII. S. 575.
27. du Bois-Reymond's Archiv. 1879. S. 238.
28. Pflüger's Archiv u.s.w. Bd. I. S. 100.
29. Ebenda. S. 101.

30. Ebenda. Bd. XVI. S. 7 und 38.
31. Ebenda. Bd. VII. S. 579.
32. Ebenda. Bd. XIV. S. 6.
33. *Berns.* Over den invloed van verschillende Gassoorten op de Ademhaling. Leiden, 1869.
34. Pflüger's Archiv u.s.w. Bd. XXV. S. 379.
35. Wiener Sitzungsberichte. 1870. Bd. LXII.
36. du Bois-Reymond's Archiv. 1869. S. 236.
37. du Bois-Reymond's Archiv. 1883. Suppl.-Bd. S. 65.
38. *Rosenbach.* Studien über den N. vagus. Berlin, 1877. S. 131.
39. Comptes rendus de la société de Biologie, 1871, p. 135.
40. du Bois-Reymond's Archiv. 1873. S. 366.
41. Wiener Sitzungsberichte. Bd. LXXXV. Abth. 3. (S. A. S. 14).
42. Archives de physiologie normale et pathologique, 1872, p. 204.
43. Zeitschrift für physiologische Chemie. Bd. III. S. 105.
44. Ebenda. S. 98.
45. *Gad.* Ueber Apnoe. Würzburg, 1880.— du Bois-Reymond's Archiv. 1880. S. 28.— *Fré-dericq.* Sur la théorie de l'innervation respiratoire. Bruxelles, 1870 (Acad.). S. 17.— *Knoll.* Wiener Sitzungsberichte. Bd. LXXXVI. Abth. 3. (S. A. Ueber Apnoe).
46. Apnoe. S. 12.
47. Biologisches Centrallblatt. 1881. S. 743.
48. Archiv für experimentelle Pathologie. Bd. VII. S. 1.
49. *Thiry.* a.a.O. S. 71.— *Traube.* Gesammelte Beiträge. I. S. 459.
50. Artickel «Athembewegungen» in Hermann's Handbuch der Physiologie. Bd. IV. 2. Abth. S. 261 ff.
51. du Bois-Reymond's Archiv. 1886. S. 65.
52. Zeitschrift für Physiologische Chemie. Bd. II. S. 123.
53. du Bois-Reymond's Archiv. 1882. S. 313.
54. A.a. O. S. 29 und S. 56.
55. *Pfeffer.* Untersuchungen aus dem botanischen Institut zu Tübingen. 1884. Bd. I. H. 3.
56. *Fränkel und Geppert.* Ueber die Wirkungen der verdünnten Luft. Berlin, 1883. S. 47.
57. *Helmholtz.* Popular — wissenschaftliche Vorträge. H. II. Aufl. II. S. 28.
58. *Ehrlich.* Das Sauerstoffbedürfniss des Organismus. Berlin, 1885.
59. *Vierordt.* Physiologie des Athmens. S. 135.
60. *W. Müller.* Beiträge zur Theorie de Respiration. Sizungsberichte der kaiserl. Academie. 1858. Bd. XXXIII. S. 99.
61. Pflüger's Archiv u.s.w. Bd. I. S. 73. Bd. XIV. S. 6.
62. Ebenda. Bd. XV. S. 636.
63. *Finkler und Oertmann.* Pflüger's Archiv u.s.w. Bd. XIV. S. 70.
64. *Raoult.* Comptes rendus etc., t. LXXXII, p. 1101 (1876).— Vergl. ferner *P. Bert*, a.a.O. p. 1003.— Ueber relative Anpassung an O-arme und zugleich CO_2-reiche Luft vergl. *C. Bernard.* Substances toxiques et médicamenteuses, p. 121 u. ff. (1857).

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ О ЖИЗНИ РЕЙНСКОГО ЛОСОСЯ В ПРЕСНОЙ ВОДЕ [1*]

Я должен принести свои извинения, так как позволяю себе сегодня увести вас снова в ту область, о которой уже многократно имел честь сообщать вам в прошлые годы. Я имею в виду жизнь рейнского лосося и в связи с этим вопрос об образовании яйцеклеток. И главное, у меня не появилось много нового и особо важного для сообщения. Наряду с несколькими соб-

ственными наблюдениями мне необходимо будет упомянуть о результатах других исследователей.

Речь идет о том, чтобы несколько прочнее связать цепь фактов, защитить от возражений высказанные в свое время взгляды, но и частично заменить прежние взгляды новыми толкованиями.

Быть может, некоторые из вас вспомнят, в чем состоит главный интерес моих продолжающихся вот уже более 20 лет (правда, с перерывами) исследований, касающихся жизни рейнского лосося. Когда рейнский лосось входит в бассейн Рейна, размер его яичников или семенников минимален. Он остается в водах Рейна, смотря по обстоятельствам, в течение 5, 10, 12 и до 15 мес. и все это время ничего не ест. Лосось мечет икру в ноябре — декабре, к этому времени его зрелый яичник составляет $^1/_4$ веса тела и $^1/_3$ его объема.

Таким образом, перед нами удивительный пример самостоятельного перемещения вещества, известный в растительном организме, в животном же организме лишь предполагавшийся, но не доказанный.

Кто открыл этот факт?

Самое важное, что лосось в Рейне ничего не ест, было, как отмечал Петер Мериан, известно давно. Красивым доказательством этого может служить открытый Шокке факт, что все кишечные паразиты рейнского лосося имеют морское происхождение.

О том, что количество мяса уменьшается, а яичник увеличивается и что между семгой и лососем имеются в этом отношении все переходные стадии, рыбаки и прежде всего Глазер знали давно. В. Гис впервые научно сформулировал этот тезис; но так как он не располагал данными о непрерывных рядах базельской семги, он не мог привести никаких истинных доказательств, и оказались возможными такие гипотезы, как, например, гипотеза Барфурта, согласно которой рейнский лосось наподобие дородного тучного рантье предпринимает весной развлекательное путешествие из моря в Рейн, но затем он внезапно вспоминает о своей обязанности по продолжению рода, поспешно возвращается в море, там основательно наедается и таким образом обеспечивает себе большой яичник, с которым затем снова возвращается в реку с серьезными намерениями.

Путем измерения и взвешивания тысяч лососей, которые были мне любезно предоставлены Глазером, в сочетании с гистологическими и химическими исследованиями мускулатуры мне удалось затем привести доказательство того, что все промежуточные стадии развития яичника осуществляются во время пребывания лосося в Рейне и что мышцы туловища теряют белок и жир в количестве, более чем достаточном для обеспечения огромного увеличения яичника. Естественно, предстояло еще заняться выяснением характера стимула для этого перемещения вещества от органа к органу, его предполагаемых причин и условий; вместе с тем я должен был найти для себя убедительные объяснения того, каким способом возникает яичник, т. е. составные компоненты растущего яйца.

Уже много лет назад я однажды выступал в Обществе естествоиспытателей с сообщением о химии яиц многих позвоночных, и в частности рейнского лосося, о котором здесь представляется столь большой материал. При

этом речь идет в меньшей степени о компонентах яйца более «высокого» предназначения — о зародышевой протоплазме, в которой впоследствии происходит дробление, или о зародышевом пузырьке, а также образовавшихся после его исчезновения продуктов — ядре и направительном тельце, которыми из-за их вероятной причастности к акту оплодотворения так много занимаются морфологи. Основным объектом моих исследований были более пассивные компоненты, которые, по мнению большинства эмбриологов, служат лишь строительным материалом, — яичный желток, который существует в различных формах — в виде прозрачной жидкости у рейнского лосося, в виде густой физически менее понятной массы жира и белка в желточных шарах куриного яйца или яйца рака, как плотные отложения в петлях сетчатой зародышевой протоплазмы у амфибий и рыб; такие отложения могут принимать форму то округлых шаров, то кристаллоидных желточных пластин.

Для всех яиц позвоночных, которыми я до сих пор занимался, было общим то, что главная масса их желтка состоит из вещества, растворимого в растворе поваренной соли, которое при осаждении водой образует белковые реакции. Если же водный осадок кипятят со спиртом, он дает (о чем уже знал Гобли) большие количества кажущегося растворимого в эфире, а при сильном охлаждении кристаллически застывающего вещества, которое содержит фосфор и при взаимодействии с хлоридом платины переходит в аморфное вещество, нерастворимое в спирте, но растворимое в эфире. Путем разложения получают глицеринфосфорную кислоту и холин; короче говоря, в нем наряду с другими веществами преобладает лецитин, своеобразный сложный эфир, встречающийся в столь многих животных тканях.

Промытый спиртом осадок, который, казалось бы, ведет себя как просто полученный белок, кроме того, содержит фосфор и, как я установил еще в 1871 г., при переваривании искусственным желудочным соком (из желудка свиньи) дает богатое фосфором вещество, которое по своим реакциям представляется очень близким фосфорсодержащему нуклеину, незадолго до этого полученному мной из ядер лейкоцитов, и который я смог получить в еще более чистом виде из сперматозоидов рейнского лосося. Мимоходом заметим, что при воздействии соляной кислоты фосфор без окисления отщепляется от этого вещества в виде фосфорной кислоты.

Исходя из какой-то особой ассоциации идей, Бунге[2*] в 1884 г. исследовал фосфорсодержащий нуклеин желтка куриного яйца на содержание железа и обнаружил в нем $^1/_3$% железа, которое, правда, легко исчезает путем отщепления. Вполне возможно, что это единственное встречающееся в курином желтке железо может служить для образования кровяного пигмента в курином яйце: поэтому Бунге назвал это вещество гематогеном и приписал ему близкое генетическое родство к гемоглобину, красному железосодержащему пигменту крови. Жаке — ассистент Института патологии — в своей опубликованной в 1889 г. диссертации показал, что полученный в чистом виде гемоглобин из крови курицы по своему химическому составу столь мало схож с гематогеном, что можно признать между ними лишь непрямое родство.

Из сказанного мне представляется, что связывание железа является

лишь частью тех особенностей, которые присущи веществам желтка, а именно почти все главные компоненты — белок, нуклеин, лецитин как часть жира, а также железо — между собой более или менее прочно соединены [3*].

Реакции:

Нуклеин в соляной кислоте нерастворим.

Вителлин в соляной кислоте растворим.

Лецитин в воде набухает, в растворе поваренной соли нет.

Вителлин в растворе поваренной соли растворим.

Я не могу утверждать, что это соединение является прочным атомным соединением при постоянных соотношениях; постоянные соотношения встречаются и при пространственно разобщенных веществах (в головке сперматозоида) как выражение более твердой закономерности в организации. Мои количественные определения говорят однако, против этого.

Лецитин обнаружен во многих тканях, в белом и сером веществе мозга, в клетках гноя (белые кровяные тельца), в сперме, в быстрорастущих опухолях, так что его следует рассматривать как строительный материал особого значения.

Нуклеины, кроме яичного желтка, были обнаружены повсюду, где удавалось изолировать ядра из клеток (кровяные тельца, клетки гноя), а также в головках сперматозоидов, которые считаются производными ядер из клеток семенника. Это фосфорсодержащие нерастворимые в кислотах, но растворимые в щелочах вещества.

Напрашивалось приписать химическим данным, касающимся куриного желтка, следующее физиологическое значение, о чем я, если не ошибаюсь, ранее уже однажды здесь докладывал. Яичный желток в значительно большей степени, чем молоко или наша обычная пища, содержит строительный материал для эмбриона, и прежде всего нуклеин будущих клеточных ядер, а также лецитин и белок протоплазмы и т. д.

Однако если в более поздних клетках нуклеин и белок пространственно разобщены в ядре и протоплазме, для веществ желтка характерно, что здесь они связаны в одну сложную неактивную молекулу. Достаточно лишь переваривающего фермента и внутриклеточного переваривания при участии клеток дробления, «пожирающих клеток», чтобы вещества эти разделились так, как это нужно клетке.

Коссель из Берлина, который в последние годы много занимался продуктами разложения нуклеиновых веществ и установил тот важный факт, что в результате разложения нуклеиновых веществ легко возникают ксантин и различные основания, даже не содержащий кислород аденин, по-видимому полимер синильной кислоты, обратил внимание на то, что именно нуклеин куриного желтка не дает таких ксантиновых тел, тогда как в самом раннем курином эмбрионе можно получить их следы при условиях, при которых разлагаются нуклеиновые вещества. Он делает из этого вывод, что нуклеины из ядер и дрожжевых клеток и нуклеины из желтка, хотя и весьма сходны по своим реакциям, по-видимому, должны быть глубоко различными [4*].

Около двух лет назад Л. Либерман из Будапешта, следуя своим путем, который не место здесь детально описывать, сделал интересное открытие, что упоминавшийся еще Берцелиусом осадок, образующий раствор куриного белка при взаимодействии с метафосфорной кислотой, точно так же, как нуклеиновое вещество, растворяется в щелочах, не растворяется в избытке кислот и имеет весьма постоянное содержание фосфора; он прислал мне несколько из своих препаратов, и я должен был подтвердить, что это вещество имеет определенное сходство с нуклеином куриного желтка, подобно последнему, оно дает известные белковые реакции (реакцию Миллона и биуретовую) и содержит серу.

С другой стороны, как раз наиболее чистые нуклеины из клеточных ядер, а именно из спермы, не содержат серы, не дают белковых реакций и, во всяком случае, заслуживают особого положения.

В конце концов я, однако, смог убедиться, что, воздействуя мягкими расщепляющимися агентами, например ледяной уксусной кислотой, или просто оставив нуклеин стоять в разбавленном растворе слабой щелочи, из желтка лосося можно получить кислые растворы, которые не дают реакций нуклеина, а вместо этого дают все реакции кислого раствора белка (осаждаемость при нейтрализации или под действием кровяной соли и т. д.). Осадок, полученный под действием кровяной соли, оказался почти свободным от фосфора. Наряду с этим в растворе находится обычная фосфорная кислота; метафосфорных кислот я еще не искал.

Следует, однако, обратить внимание на то, что разложение не доходит до расщепления белковой молекулы с возникновением слабохарактерных пептоноподобных веществ. Правда, осадок, оставшийся неизменным при однократной обработке ледяным уксусом или натриевой щелочью, при повторной обработке образует больше растворенного белка, так что едва ли следует сомневаться в эффективности расщепления.

Итак, у нас есть все основания к тому, чтобы рассматривать так называемый нуклеин яичного желтка как спаренную альбуминфосфорную кислоту и, согласно Косселю, ни в коем случае не смешивать его с истинным ядерным нуклеином, в котором фосфорная кислота спарена с весьма своеобразным комплексом атомов.

Если понадобятся дополнительные факты для подтверждения моих нынешних взглядов, касающихся значения желточной субстанции, то они могут быть представлены, так как я несколько раз имел возможность (благодаря помощи Глазера) исследовать яйца, полученные от живых самок омара. Известно, что черные величиной с горошину яйца развиваются на абдоминальных аппендиксах, укрепляясь на них с помощью отростка типа корешка. Исследованные яйца уже содержали небольших эмбрионов и зародышевую оболочку, однако бо́льшая часть желточной массы оставалась интактной. Если не считать легко распознаваемых обломков клеток бластодермы, то желточная масса состояла из легко текучей жидкости, которая давала с водой незначительный растворимый в соляной кислоте осадок — вителлиноподобная реакция. Там находились в изобилии жировые капли. В остальном основная масса состояла, однако, из окрашенных в зеленый цвет вязких шаров или капель с большим или меньшим числом вакуолей

и жировых зернышек. Эта зеленая субстанция растворялась в воде. После того как осторожно вскрытые яйца, разбавленные водой, фильтровали через полотно, отделяя эмбрионы от жидкости, я центрифигурировал жидкость при 1800 оборотах и получал на дне пробирки небольшое количество бесцветного осадка, который наряду с клетками зародышевой оболочки и их обломками содержал в меньшем количестве вителлиноподобное вещество, а сверху в виде сливок — жировые капли. Между последними и осадком находился совершенно прозрачный темно-зеленый раствор, который не давал осадка с уксусной кислотой при условии, если не производили кипячения.

Кровяная соль, напротив, количественно осаждает все белки из уксуснокислого раствора, сразу же приобретающего кирпично-красную окраску. Этот полученный с помощью кровяной соли осадок после тщательного промывания давал с теплым спиртом сравнительно большое количество растворимого в эфире вещества, которое, судя по содержанию фосфора, более чем на половину состояло из лецитина, по-видимому, представляет собой жир. Из $2^1/_2$ г вещества я получил $^2/_3$ мг фосфорной кислоты. Однако нерастворимый осадок полностью лишен фосфора. Это исследование еще окончательно не завершено.

Здесь нет никакой речи о предсуществовавших субстанциях клеточного ядра. Тельце эмбриона должно образоваться из белка, жира и главным образом из очень большого количества лецитина и неорганических солей, конечно, в результате глубоких химических превращений и синтеза.

Общим для яичного желтка исследованных до сих пор животных является то, что большое количество фосфорной кислоты, которая затем используется в различных комбинациях в эмбриональных клетках, появляется в труднорастворимой, невымываемой неактивной форме. У омара такой формой является исключительно лецитин, у позвоночных — частично лецитин, а частично соединение с белковыми телами.

Если кто-либо захочет искать еще какую-нибудь особую функцию лецитина, то я обратил бы его внимание на следующее. Жир нерастворим в воде; в белковом растворе и растворе сахара он до некоторой степени растворяется, но незначительно. Между тем во всех изученных до сих пор яичных желтках мы находили белок и лецитин, соединенные в растворимую форму с большим или меньшим количеством жира, либо уже растворенными, как в яйцах лосося и омара, либо в виде желточных пластинок, как в яйцах амфибий и акул. Особенно большое количество растворенного жира находится в вязкой массе желтка куриного яйца. Если пересчитать результаты анализа, проведенного в 1867 г. Парке, учеником Гоппе-Зейлера, соответственно нынешней формуле лецитина, то получим на 100 частей свежего яичного желтка 15,6 белка (включая нуклеин), 12,0 лецитина, 22,5 жира.

Тем не менее желтая желточная масса полностью растворяется в 5%-ном растворе поваренной соли или в $^1/_{500}$ соляной кислоты, причем количество свободных жировых капель сравнительно невелико.

В присутствии лецитина жир может растворяться, переходить с белком в раствор и маскироваться для глаза. Несомненно, что там, где ле-

цитин встречается в живых тканях, он играет такую же роль. Происходит ли при этом слабое химическое связывание по типу молекулярного соединения? По крайней мере для отношений лецитина с вителлином (белок) это приходится признать, так как если чистый лецитин в воде набухает и даже немного растворяется, то, как мы это знаем о жирах, в концентрированных солевых растворах растворение и набухание прекращаются.

Вителлин из яйца лосося и куриного яйца полностью растворяется в концентрированном растворе поваренной соли, а при добавлении воды снова выпадает в осадок. О том, что нуклеин химически связан, свидетельствует тот факт, что вителлин можно полностью растворить в соляной кислоте $^{1}/_{500}$ и даже с ней нагреть, и лишь после добавления раствора пепсина в качестве продукта расщепления выпадает нуклеин.

Прежде чем перейти к физиологическому обобщению относительно желточной субстанции, я должен рассмотреть эти частично твердые, а частично полужидкие и жидкие массы в связи со структурой всего яйца.

Известно, что на ранних стадиях развития яйца всех животных представляют собой простые клетки с ядром без каких бы то ни было удивительных особенностей. Однако у большинства животных (не у самых низших) яйцеклетка растет необычным образом. Бо́льшая часть ее протоплазмы приобретает отчетливо сетевидную структуру, и в петлях этой часто очень тонкой и мягкой, а потому с трудом выявляемой сети скапливаются взвешенные в большем или меньшем количестве жидкости относительно твердые желточные элементы вместе с каплями жира. Какую позицию должна занять морфология в отношении этих желточных элементов? Не есть ли это только продукт секреции, на форменные структуры которого не следует обращать внимания, или все эти разнообразные шары, пузырьки и т. п. представляют интерес и с морфологической точки зрения? В тех случаях, когда желточная масса представляет собой прозрачную жидкость, как в яйце сальмонид, или когда она состоит из вязких капель, как в яйце рака и в курином яйце, там, где обнаруживаются кристаллоидные желточные пластинки, решение поставленного вопроса не представляет трудностей. Однако в некоторых яйцеклетках встречаются провизорные желточные элементы, погруженные в зародышевую плазму. У лосося это светлые шары, растворимые в соляной кислоте и нерастворимые в растворе поваренной соли; в курином яйце это наполненные жидкостью пузыри с находящимися внутри тельцами, сильно преломляющими свет, так называемые белые желточные шары. В свое время профессор Гис ссылался на эти образования, отстаивая свою теорию парабластов; он считал их преобразованными мигрирующими клетками или ядрами таких клеток, которые, находясь в желтке, сохранили свою жизнеспособность и стали источниками происхождения крови и кровеносных сосудов [5*]. Действительно, Гис наблюдал вокруг ранних растущих яйцевых фолликулов рыб скопления лейкоцитов, причем частично подвижных. Пронаблюдав на протяжении многих лет за ростом яичников, я точно установил, что период интенсивного роста яиц продолжается с середины

августа до конца сентября. Однако напрасно занимался я в этот период просмотром оболочек бесчисленных яиц изнутри и снаружи, со стороны наружных складок и на продольном разрезе; ни разу мной не наблюдалось картины, которую можно было бы истолковать как вхождение клеток, ни разу не встречал клетки, застрявшей в просвете поры, ни разу под мембраной не было ничего другого, кроме самых обычных элементов желточной коры, включенных в протоплазму.

Из элементов, которые могли рассматриваться у лосося как остатки мигрировавших клеток, наиболее «подозрительны» имеющие совершенно атипичные размеры — от 1 до 20 и более микрон в диаметре; это относится к принимаемым за ядра тельцам-включениям в белых желточных шарах. В содержимом яйце лосося можно видеть, особенно в сезон максимальной интенсивности роста, богатые картины, указывающие на процесс слияния многих таких бледных шаров, в конце концов, очевидно в результате сокращения или рассасывания протоплазматических мостиков, образуются крупные, в большинстве своем овальные тела, очень вязкие, после слияния которых область прозрачной жидкости яйца сильно расширяется. Этому слиянию соответствует и процесс химического превращения. Бледные шары, после раздавливания яйца плавающие в обильной концентрированной жидкости в виде вакуолей, в растворе поваренной соли не растворяются, даже сморщиваются, однако в растворе соляной кислоты или соды они растворимы; в результате их превращения образуется растворимый в солях вителлин.

Не связан ли с этим явлением тот факт, что яйцевая жидкость дает кислую реакцию, тогда как обесцвечиваемый соляной кислотой раствор цианина придает бледным шарам интенсивно синюю окраску?

Каково же отношение к этим желточным элементам собственной протоплазмы яйца, которая в яйце лосося и курицы оказывается, правда, смещенной желточными массами к центру яйца? Не является ли желточная субстанция лишь формой уплотнения или дегенерации зародышевой протоплазмы?

На яйцах лосося, которые можно добыть в больших количествах, удается кое-что установить для ответа на этот вопрос. Бледные шары содержимого яйца после переваривания становятся неразличимыми, стало быть, они не относятся к нуклеину, но дают его в качестве продукта расщепления. После растворения бледных шаров действием поваренной соли и желчи вещество оказывается почти свободным от фосфора, т. е. химически представляет собой нечто иное, чем желток; оно как раз является клеточной протоплазмой [6*]. Мои исследования, касающиеся этого вопроса, на курином яйце дальше еще не продвинулись.

На яйце шелкопряда я сделал новые интересные наблюдения: очень плотные сильно преломляющие свет желточные зерна или желточные пластинки в этом случае удается легко изолировать путем вымывания водой и особенно с помощью центрифугирования. При микроскопическом исследовании содержимого яйца без добавок меня всегда поражала его жидкая консистенция и малое содержание белковой субстанции; под действием спирта получался лишь очень скудный осадок. Где же собственно

та зародышевая протоплазма, которая составляет жизненную силу, материальный субстрат всех активных процессов?

Изолированные несколько раз на центрифуге промытые водой желточные пластинки представлялись полностью растворимыми в 5%-ном растворе поваренной соли. После встряхивания этого раствора с эфиром он давал при закапывании его в воду осадок вителлина, из которого с помощью спирта можно было получить лецитин, а с помощью искусственного желудочного сока — нуклеин [1].

Однако, к моему удивлению, образовался обильный пограничный слой, в котором вовсе не оказалось лецитина и имелось лишь небольшое количество фосфора. Поскольку отделение растворимого в растворе поваренной соли вителлина от пограничного слоя было ненадежным, то вполне возможно, что этот пограничный слой на самом деле был свободен от фосфора [2]. Иными словами, в самих желточных пластинках заключена здесь субстанция, которая соответствует зародышевой протоплазме яйца лосося, как если бы уплотнение желточного вещества образовалось вокруг узлового пункта первоначальной сети протоплазмы, от которой затем тяжелые желточные пластинки легко отделяются. Так что и здесь имеется химическое различие между протоплазмой яйца и желточными пластинками.

Я предполагаю еще предпринять в дальнейшем более точное микрохимическое исследование с использованием красителей [7*].

Что касается судьбы содержащихся в яйце веществ и, следовательно, их значения, то исследования по этому вопросу я только что начал и для этой цели подверг исследованию многие серии яиц лосося в свежем виде, оставив остальные яйца каждой серии до полного истощения желточного мешка, т. е. на $4^1/_2$ мес в чистой воде источника. В момент, когда их убивали, они еще содержали $^1/_3$ своего первоначального жира, хотя желточный мешок в виде спавшегося остатка оказывался полностью в брюшной полости эмбриона. Из первоначально присутствовавшего в различных формах количества фосфора и фосфорных кислот обнаруживалось еще $^7/_{10}$; несомненно, было утрачено и много белка.

Если хотят узнать, сколько фосфора в форме нуклеина содержится максимально в ткани, то путем кипячения со спиртом и эфиром освобождают ее по возможности от жира и лецитина, экстрагируют свернувшуюся весьма резистентную массу водой, а затем холодным, содержащим небольшое количество соляной кислоты разбавленным винным спиртом для удаления растворимых солей фосфора и щелочных земель; предполагаемые нуклеиновые вещества клетки остаются при этом неизмененными, во всяком случае, фосфор вителлина полностью выдерживает такую обработку.

В обработанном таким образом веществе ткани лосося, у которого желточный мешок уже истощен, содержится всего $^2/_3$ фосфора вителлина,

[1] Чистейший вителлин, свободный от лецитина, содержит 2,93% P_2O_5. Эфирный экстракт — 14,1% на 100 обезжиренного осадка с 4,93% лецитина.

[2] Слабый спиртовой экстракт не давал с хлоридом платины никаких следов помутнения (лецитин).

который составлял почти весь белковый запас яйца. Так что, во всяком случае, какая-то часть фосфора используется в нуклеине яйца в какой-то иной форме, чем в виде фосфора клеточного ядра; между этими двумя формами нет простого количественного соотношения.

Что касается лецитина, то после обработки в делительной воронке водой и эфиром 200 яиц лосося получали коагулированный пограничный слой; содержание фосфора в спиртово-эфирном экстракте этого сгустка соответствовало 0,333 г лецитина, т. е. $^1/_{4,5}$ первоначально содержавшегося. Так что подавляющая часть лецитина оказалась использованной, часть же упорно удерживалась, являясь явно функционирующей. Следовательно, не может быть и речи о прямом количественном переходе нуклеина и лецитина в зародыш.

Это вполне можно понять, так как хотя бы для построения мышцы требуются другие формы фосфора. Это те формы, из которых фосфорная кислота может быть экстрагирована водой в виде осаждаемой баритовой водой калиевой соли. За это как раз и должны «расплачиваться» нуклеин и лецитин.

Нам хотелось бы здесь сделать небольшое отступление и посмотреть, откуда происходят вещества, содержащиеся в яйце. По крайней мере в отношении рейнского лосося мы можем кое-что об этом сказать — со всей определенностью продемонстрировать, что, быть может, для всей или уж, во всяком случае, для подавляющей массы яичника, который по своему твердому составу увеличивается с $^1/_{300}$ до $^1/_3$ общей массы твердого вещества, источником веществ служит большая боковая мышца туловища.

Наряду с уменьшением объема и содержания твердых компонентов мышцы можно отметить и отчетливые изменения, в частности разрыхление фибрилл, обусловленное исчезновением межфибриллярных веществ, и, кроме того, появление жироподобных зернышек, масса которых, начиная с весны, с ростом яичника весьма существенно увеличивается; в мышцах плавников и сердца, вес которых остается неизмененным, ничего подобного не наблюдается.

Кроме этих изменений, ничего необычного в мышцах я не заметил; в частности, мне ни разу не удалось обнаружить признаков истинного разрушения или распада волокон, подобного тому, который описывают при распаде органов личинки в процессе окукливания у насекомых или при атрофии хвоста у головастика. Я не сомневаюсь в том, что впоследствии в море мышцы лосося снова регенерируют.

В моей работе 1880 г. я в разных местах упоминал об этих явлениях, однако лишь коротко, так как в самом деле эти данные были очерчены всего несколькими словами.

Спустя три года появилась известная теория фагоцитов, «прожорливые» контрактильные клетки буквально «вгрызлись» в науку. Профессор Кольман еще раньше однажды упоминал о них, обсуждая процесс пищеварения у определенных низших животных (планарий); он указывал, что в их теле есть клетки, которые захватывают твердые компоненты пищи, пожирают их и затем переваривают.

Этим свойством обладают, в частности, белые кровяные тельца и дру-

гие мезодермальные клетки. Мечников очень увлекательно описал, как у известных мелких рачков дафний, инфицированных спорообразующими грибами, амебоидные клетки крови овладевают гонидиями гриба и особенно спорами, захватывают их и постепенно разрушают, так что у многих инфицированных особей никаких тяжелых нарушений не возникает. Представляется естественным и сопротивляемость организма, которая столь часто, несмотря на инфекцию, препятствует развитию заболевания, объяснить такой борьбой между грибами и белыми кровяными тельцами или другими клетками, действующими как фагоциты. В других случаях фагоциты служат не только «живодерами». Так, например, в процессе метаморфоза головастиков, при котором подлежат разрушению органы и ткани хвоста, белым кровяным тельцам, выполняющим роль фагоцитов, «приходится нападать» на клетки эпидермиса, мышечные волокна и т. п., внедряться в них, разрушать их и поглощать обломки.

Современный автор д-р Лоос в значительной степени принизил роль фагоцитов в процессе атрофии хвоста у головастика; мышцы и другие ткани разрыхляются и начинают разжижаться совершенно независимо от каких бы то ни было фагоцитов. Фагоциты главным образом содействуют, поглощая и разрушая нерастворимые продукты распада, пигментные тельца и фрагменты мышечных волокон.

Лоос упрекнул меня, заявив, что если бы в своих исследованиях рейнского лосося я не пренебрег полностью микроскопическими методами, то увидел бы фагоциты. Я ничем не пренебрег; часто и много в разные времена года рассматривал мышечные волокна; тем не менее не увидел ничего, кроме мышечных волокон с большим или меньшим числом жировых зернышек; в 1880 г. я не мог знать, что в 1883 г. мне придется вступить в конфликт с учением о фагоцитах. Лоос просто не читал мою работу в оригинале.

Что же представляют собой эти жировые зернышки? Действительно ли это жир или и в этом случае правы Дастр и Мора [3], когда они указывают на образование лецитина при дегенерации печени в случаях отравления фосфором и поражением почек при нефрите (кислая зола)?

Чтобы не возник конфликт с кислыми фосфорнокислыми солями, которые тоже до некоторой степени растворимы в эфире, я многократно кипятил большой фрагмент мышечных волокон из мышц туловища, взятый в период максимального роста (сентябрь), до полного вымывания водой, а затем спиртом.

Спиртовой экстракт содержал около 10% фосфора, из которых $^1/_5$ принадлежала фосфору лецитина.

Однако в значительных количествах обнаруживался и холестерин. Я пока не могу решить, образуется ли этот лецитин заново в процессе дегенерации или он уже находился в мышечной ткани и лишь освобождался при разжижении склеивающего вещества.

Что, однако, представляется полностью отсутствующим, так это нук-

[3] Comptes rendus de la soc. de Biol., 1879, p. 143.

леиновые тела. Путем переваривания обезжиренного мяса мышц я не получал существенного количества хлопьевидного растворимого в аммиаке осадка.

Прослеживая за тем, что мышца отдает яйцу в дальнейшем на его пути, или, другими словами, сам переход вещества, а не только начальный и конечный пункты [8*], мы подошли к исследованию крови.

В последние два года я изучал это весьма подробно, намереваясь выяснить, происходят ли с белками крови какие-либо ощутимые изменения. Мной фактически были проведены количественные анализы крови 44 лососей, а частичных анализов — еще больше; благодаря любезности г-на Глазера мне удавалось у большинства этих животных брать кровь из грудной полости еще при бьющемся сердце. У 13 лососей это исследование проводилось в весенние месяцы, когда рост органов происходит еще очень медленно, у 8 — с февраля по апрель, у 5 — в июне и июле; у 31 лосося исследование относилось к периоду абсолютно интенсивного роста — с 17 сентября по 9 октября, т. е. к тому времени, за которое образуется примерно три четверти яичника.

Получилось, что общее количество белка в сыворотке крови у осеннего лосося (27) составляет в среднем 4,9%, а у весеннего — 4,5% сыворотки, так что во всяком случае, несмотря на состояние голодания и прогрессирующую отдачу яичнику, оно увеличивается. Это обстоятельство весьма важно в отношении теории рассматриваемого процесса. Почему мышца туловища отдает свой белок? Не цель, а причина того, что белок крови истощается. Быть может, в какой-то один момент, когда клапан «открывается», происходит моментальное «перетекание» белка. Плазма крови должна в среднем стать значительно беднее белком. Так что главный принцип следует искать где-то еще.

Однако, что представляет собой «блуждающее» вещество? Известно, что наряду с растворимым в воде сывороточным белком встречается еще так называемый глобулин, т. е. белковое тело, которое само по себе в нейтральной воде нерастворимо, при разбавлении и закислении крови выпадает в осадок, однако в солях и щелочных жидкостях оно растворяется и, следовательно, растворяется в сыворотке, содержащей соли и дающей щелочную реакцию. Такими же свойствами обладает и главный белок мышц — миозин, аналогичную реакцию имеет и вителлин яйца. Не является ли глобулин крови промежуточным продуктом между этими двумя веществами?

В самом деле, мне еще в 1880 г. бросилось в глаза, что сыворотка осеннего лосося при разбавлении водой сильно мутнеет, а под влиянием эфира дает исключительно большой осадок. За небольшими отклонениями исследованный мной ряд из 31 осеннего лосося дал более чем удвоенное содержание глобулина (1,33%) по сравнению со средним показателем для 13 весенних лососей (0,62%). Здесь не остается никаких сомнений в том, что глобулин является первым из блуждающих веществ.

Если мы, однако, вместо одних лишь средних значений подробно рас-

смотрим ряды чисел, мы столкнемся с различными особенностями. У весеннего лосося показатели общего белка составляют 3,7—6,3%, а глобулина — 0,2—1,0%, и также у осеннего лосося процепт общего белка равен 3,4—6,1, а глобулина — 0,3—2,2. Закономерность находит выражепие лишь в средних значениях.

Я не могу привести этим данным никакого другого объяснения, как то, что интенсивность этого блуждания веществ подвержена различным колебаниям, зависящим от тех условий, в которых в каждый конкретный момент находятся мышца, отдающая вещество, и яичник, воспринимающий это вещество. Известно, что лососи часто подолгу спокойно стоят на дне потока или вблизи берега и до изнеможения трут о камень кожу между плавниками. Затем начинаются дожди, вода прибывает, усиливается течение, становится холоднее. Лосось покидает свою стоянку и проплывает на несколько километров вверх по течению. Разве изменившееся распределение крови, вызванное такими переменами, не повлияет на процессы тканевого дыхания в яичнике и мышце, а следовательно, и на рост и растворение тканей?

К сожалению, здесь нет времени еще раз излагать те основания, согласно которым я считаю тканевое дыхание главным регулятором в описанных обстоятельствах; мышца тела содержит значительно меньше крови, чем неисчезающие плавниковые мышцы, и это привело меня к мысли, что она в периоды, особенно неблагоприятные в смысле доставки крови, отдает больше всего вещества. Такая неудовлетворительная доставка крови может возникнуть, например, ранним летом, когда яичник «просыпается от спячки» и начинает медленно расти. Позже растущий яичник сам начинает нуждаться в крови, мышцы же вынуждены довольствоваться малым.

Набухание селезенки, которое я описывал выше, также подвержено своеобразным отклонениям от нормы, которые указывают на колебания условий жизни. Нам известно, что действующая мышца получает больше крови, поскольку ее сосуды расширяются нервным путем. Не является ли само по себе блуждание способом остановки отдачи вещества? Из сказанного видно, как трудно проследить за подобными вещами, как много надо собрать материала и как следует остерегаться выводов из разрозненных отдельных наблюдений.

Я, как мне кажется, здесь ни разу подробно не рассказывал об изящном эксперименте, поставленном самой Природой. Ранним летом, в мае-июне, когда уровень воды очень низок и лососи подолгу спокойно стоят в воде, на них нападают Piscicola respirans, последних находят на жабрах, на непокрытых чешуей местах у корней плавников, на хвосте, в ротовой полости и т. п. Некоторые рыбы переносят не слишком длительную инвазию без серьезных последствий. Но бывает и по-иному: однажды торговец, вскрыв передо мной такую рыбу, удивленно сказал: «Да здесь же вообще нет крови!». У таких рыб отмечаются симптомы тяжелой болезни с резко ослабленной циркуляцией, язвы типа пролежней, гангренозное поражение лучей плавников.

Это явление возникает по большей части ранним летом, когда яични-

ки еще очень малы ($^1/_6$—$^1/_{10}$ зрелого веса), а состояние дегенерации мышц тела в нормальных условиях выражено еще умеренно. Однако мышца тела анемичного лосося битком набита жировыми зернышками, и здесь проявляется то же различие между этой мышцей и мышцами плавников, а также мышцей сердца. Одновременно у голодающего животного печень оказывается резко набухшей, увеличенной в $2^1/_2$ раза, причем вовсе не за счет жира, а в результате паренхиматозного мутного набухания клеток, как если бы печень выполняла роль временного «депозитного банка» или, быть может, очага массивного распада.

В те годы, когда летом встречалось много пиявок, осенью нередко попадались истощенные экземпляры лососей с рубцами обширных язв и дефектами лучей плавников, но в остальном совершенно здоровые. Относительно своей длины такие рыбы выглядят исключительно тонкими; в яичниках обнаруживаются более мелкие яйца. Несомненно, имели место нерациональные потери вещества. В результате нарушения тканевого дыхания происходила отдача вещества без усвоения их тканью яичника; вещества разрушались в печени подобно тому, как это происходит при избыточном потреблении белковой пищи; когда спустя некоторое время должен был начаться интенсивный рост яичника, запасы веществ были уже исчерпаны.

Я ни разу не наблюдал в крови заметного скопления белых кровяных шариков и их выраженного участия в описанных процессах; по всей видимости, фагоциты и здесь не играли особой роли. Мышца отдает свое вещество в жидкой форме; оно переносится кровью и поглощается яичником.

Каким же образом транспортируется жир (8—10% ткани яичника) и лецитин? Жировые капельки встречаются, но, если кровь интактна и не подвергается гниению, капелек этих немного.

При многочисленных определениях белка я сделал интересное наблюдение. Когда я путем центрифугирования удалял из сыворотки крови сентябрьского лосося весь жир, так что жидкость становилась совершенно прозрачной, и когда я эту сыворотку встряхивал с эфиром, то в эфир переходили минимальные следы жира.

Если же белок подвергали коагуляции путем кипячения или обработки спиртом, то из сгустка удавалось уже спиртом, а полнее эфиром извлечь очень большое количество растворимого в эфире вещества; еще надежнее и полнее это удавалось путем истинного экстрагирования сгустка.

В ряде случаев я получил таким образом 1,5—2% (и более) исходной сыворотки в виде эфирного экстракта; сходные количества давали как глобулин, так и остаточный белок, которые составляли до половины всего белка. И все это из прозрачных разбавленных растворов.

Эти эфирные экстракты содержали такое количество фосфора, в соответствии с которым $^1/_3$—$^1/_2$ составлял лецитин. Лецитин удалось обнаружить и качественно, путем получения нерастворимой в спирте, но растворимой в эфире двойной платиновой соли, а также после разложения баритом путем получения платиноаммиачного производного холина в виде знакомых оранжево-красных пластинок.

Хотя получить белковые вещества, совершенно не содержавшие фосфора, не удавалось, их переваривание не давало нуклеина.

Кроме лецитина, из сгустка можно было получить небольшое количество холестерина; остаток составлял жир.

Известно, что накопленный в животном организме жир играет важную роль как резервное вещество; массы жира могут в течение короткого времени поступать из кишечника в жировую ткань. В условиях голодания или при потреблении пищи, богатой белком, но бедной жирами и углеводами, используются большие количества накопленного в организме жира, однако происходит это не в жировых клетках, а в активных органах — мышцах, железах и др. Следовательно, жир должен перемещаться. Однако об этом перемещении мы знаем чрезвычайно мало.

Вопрос о том, в какой форме жир в сопровождении лецитина незаметным образом перемещается в организме, может служить исходным пунктом для дальнейших исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Можем ли мы в заключение, исходя из данных о мышце туловища, крови и яйце, построить цепь и извлечь из нее какие-либо выводы или хотя бы указания, касающиеся истории растущего яйца [9*]?

За исключением связанного с белком нуклеина, все основные вещества, и прежде всего жир и лецитин, мы обнаруживаем уже в мышце, затем в процессе перемещения в крови в виде своеобразных соединений, наряду с этим в определимых количествах в крови находятся фосфорнокислые соли.

Нуклеин не обнаруживается в крови, нет также никаких признаков иммиграции клеток. Где можно было бы найти бесчисленные массы клеток?

Однако мы установили вероятность того, что нуклеин яйца — это просто альбуминфосфорная кислота, с которой связываются лецитин и жир.

Таким образом, согласно нашим современным знаниям в отличие от прежних представлений, химическая работа, которую должно выполнить яйцо, значительно упрощается. Это простой синтез, аналогичный проводимому искусственно с метафосфорной кислотой. В то время как лецитин включается в белок, а нуклеин из него исключается, бо́льшая часть жира выступает в виде особых капель, при этом образуется новое красящее вещество.

С другой стороны, новейшие литературные данные, касающиеся морфологии яйца, позволили значительно глубже, нежели ранее, проникнуть в структуру примитивной протоплазмы яйцеклетки с ее тонкими тяжами и заполненными жидкостью протоками и вакуолями. Желточные элементы проявляются вначале во внутренней части этой протоплазмы, правда, после этого они могут переходить в полость, образуя там обособленные глыбки и капли различной, несомненно, пассивной формы.

Я оставил вовсе не затронутым вопрос о том, встречаются ли наряду с этим истинные ядра и клетки, не зависящие от зародышевого пузырька

и его продуктов, которые впоследствии приобретают самостоятельное формообразующее значение.

Собственно желточные структуры с их атипичными размерами являются ничем иным, как каплями своеобразных смесей или соединений белка с лецитином и жиром.

Теперь в качестве источника желтка остается еще миграция клеток, которую предположил Гис. Я еще раз повторяю, что не касаюсь здесь вопроса о миграции отдельных немногочисленных клеток, которые образуют зародыш, а рассматриваю клеточную миграцию лишь в той мере, в какой она служит источником желточной массы.

По Гису, имеет место миграция лейкоцитов. Однако куда? На основании обширного численного материала взвешиваний я убедился в том, что у лосося в одном лишь сентябре яичник увеличивается на $^1/_4$ часть, скажем, около 8% веса тела. А при высокой концентрированности массы в яичнике это составит много больше — 12%, а быть может, и 15% веса тела; это соответствует примерно $^1/_2$% веса тела на каждый день.

Я неоднократно производил определение количества крови у лосося, но ни разу не обнаружил величины, составляющей полных 3%. Если мы примем эти 3%, то получим, что яичник захватывает ежедневно $^1/_6$ общего объема крови в виде лейкоцитов. Это должно было быть заметным. Однако те подсчеты, которые я опубликовал в 1881 г. в работе[4] о селезенке, не выявили ничего особенного. В крови сердца 6 лососей именно в сентябре на 100 красных кровяных телец определялось 0,7—3,2 белых. Это по массе исключительно мало, если сравнить с 1—2% глобулина и 3—4% других белков. Так что это не может быть прямым перемещением из крови.

А мембрана гранулоза? Именно ее не обнаруживают в известных стадиях, когда яйцо еще растет. У лосося это тонкие слои мелких клеток, которые иногда больше напоминают гнойные, полужидкие, своеобразно атипичные и ни в коем случае не имеющие тенденции прикрепляться к оболочке яйца, не может быть и речи о том, что они посылали свои отростки в поровые каналы; они так легко и спонтанно отходят от свежего яйца, что я полагаю, что между ними и оболочкой яйца должен быть какой-то жидкий слой.

Что касается картин миграции клеток, то, как мне представляется, ныне все сходятся на том, что именно к ним относится поразительная картина отмирающего фолликула, к распадающемуся содержимому которого жадно устремляются фагоциты.

Во всяком случае, гранулоза не относится к структурам такого постоянства и четко сформированных элементов, чтобы ей можно было приписать главную роль в такой важной задаче.

Я хотел бы еще раз напомнить, что со стороны быстрорастущего яйца на соединительные субстанции действует мощный ростовой импульс, сравнимый с исходящим от растущей опухоли формативным раздражением, с воспалением или заживлением раны. Все эти процессы, резуль-

[4] Archiv f. Anat., 1881, S. 212 und oben S. 212.

татом которых в конце концов является новообразование соединительной ткани и сосудов, притягивают к себе массы лейкоцитов, и соединительная субстанция быстро растущего яичника непрерывно находится на стадии грануляционной ткани.

И наконец, в качестве дающего массу фактора нам остается сама яйцеклетка. По каким-то внутренним причинам, которые нам еще неизвестны, она растет в геометрической прогрессии. Вещества, которые ей необходимы, могут просто возникать, как у насекомых, имеющих желточный проток, путем распада соседних клеток; они образуются как раз в твердой форме, так что яйцу остается поглотить их подобно тому, как это делают фагоциты.

В других случаях у лосося, а также у курицы яйцеклетка поглощает растворенные в крови вещества и сама превращает их в необходимую форму наподобие железы, которая изливает свой секрет не наружу, а в полость своей спонгиоплазмы.

На примере лосося мы видели, что приписываемая яйцеклетке химическая работа не столь уж значительна и, пожалуй, немногим более интенсивна, чем в других случаях, связанных, например, с образованием ангидридов (сахара в крахмале и т. п.). Своеобразные желточные элементы не представляют никакой морфологической ценности.

Мы видели далее, что и химически протоплазма сохраняет известную автономность относительно желточных масс, как и в случае клеток железы в отношении их секрета.

Таким образом, яйцеклетка выполняет свою задачу без какой бы то ни было посторонней помощи, только собственными силами.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ФРАГМЕНТЫ О РЕЙНСКОМ ЛОСОСЕ [1*]

1. Вначале профессор Мишер сообщает о своих исследованиях, касающихся содержания углеводов в крови и тканях голодающего рейнского лосося. У многочисленных самок лосося, выловленных в момент нереста или вскоре после него, т. е. после периода длительного голодания, в крови, взятой из сердца у еще живых животных методом Фелинга, как правило, обнаруживали сахар (минимум $^1/_{20}$%, максимум $^1/_6$%). Эти величины соответствуют обнаруженным в крови собаки. В печени содержится сахар и почти всегда гликоген; последний максимально до $^1/_3$%. Меньшие количества гликогена находили почти всегда в мышце туловища, хотя последняя в результате передачи вещества яичнику и многомесячного истощения уменьшилась до $^2/_3$—$^3/_4$ своего состава. В порядке исключения гликоген отсутствовал в мышцах головы, хвоста и плавников. Точно гликоген определяли по методу Кюльца.

Эти результаты находятся в известном противоречии с результатами проводившихся до этого экспериментов, согласно которым у млекопитаю-

щих и птиц после длительного голодания гликоген печени и несколько медленнее гликоген мышц исчезают задолго до наступления голодной смерти. В противоположность тому факту, что у сурков во время зимней спячки был обнаружен гликоген, следует подчеркнуть, что лосось во время длительного периода голодания и путешествия от моря до Базеля должен из собственных веществ добавлять к построению яйца и для потребления во время полового возбуждения. Так что углеводы, по-видимому, являются новообразованными, а не запасенными заранее.

Из своих наблюдений Мишер делает вывод, что исчезновение гликогена не является обязательным следствием голодания, а происходит в результате органического нарушения функций. У лосося, который адаптировался к длительным периодам голодания, подобное нарушение функций отсутствует.

2. О химическом строении сперматозоидов лосося. С помощью центрифуги и других вспомогательных средств Мишеру удалось отделить сперматозоиды от сопровождающей их жидкости, причем таким образом, что он получил головки в виде большого количества снежно-белого порошка, тогда как хвосты остались в жидкости. В хвостах содержалось очень много растворимого в эфире вещества, в состав которого входил лецитин и немного холестерина. Из головок получалось очень мало эфирного экстракта.

Известно, что многие авторы защищают теории оплодотворения и наследственности, основанные на содержании нуклеина в головках сперматозоидов, и вопреки старым противоположным данным, можно встретить утверждение, что головки представляют собой гомогенное вещество (Альтман) или зерно нуклеина (grain de nucleine) (Мора). Как показывает само сравнение содержания фосфора в одних головках (около 13,4% P_2O_5) и в чистом нуклеине (примерно 21% P_2O_5), нуклеин, или, по новой терминологии, нуклеиновая кислота, является самым важным элементом. Однако после того как с помощью горячего спирта из изолированных головок извлекается лецитин, а с помощью соляной кислоты удаляется описанное уже в 1874 г. основание — протамин, который, будучи связан с нуклеиновой кислотой, составляет четверть общей массы, то остается осадок, содержащий всего 17,5% P_2O_5 и, следовательно, состоящий на $^1/_6$ из других веществ, кроме нуклеина. Микроскопические картины, описанные Мишером 18 лет тому назад и снова полученные им при использовании новых ядерных красителей, с известной точностью выявили внутреннюю структуру головки: совокупность пространственно разделенных веществ, толстая капсула, внутренняя масса и находящаяся в ней палочковидная структура, соединенная с нитями хвоста.

Если, после того как с помощью соляной кислоты удален протамин, обработать изолированные головки сперматозоидов реактивом Миллона, который известен тем, что вызывает лишь поверхностное покраснение белков, то головки сперматозоидов остаются бесцветными. Растворенные в соде головки дают с сульфатом меди сильную биуретовую реакцию. Однако реакцию Миллона можно получить и в том случае, если удалить нуклеин с помощью холодного едкого натра и воздействовать на плохо

растворимый осадок. При этом изолированные головки сохраняют некоторое количество серы, тогда как нуклеин серы не содержит.

Суммируя эти данные, можно сделать вывод, что оболочка головки сперматозоида состоит из нуклеиновой кислоты, связанной с протамином, внутри же находятся истинные белковые тела. Так что результаты микроскопических и химических исследований совпадают.

Для теории окрашивания ядра представляет интерес тот факт, что известные красители хроматина, такие, как сафранин, метиленовый зеленый и генцианвиолет, не окрашивают состоящую из нуклеина оболочку головки, а, напротив, окрашивают ее внутреннюю часть, не содержащую нуклеина. На хороших препаратах последняя очень резко отличается своим интенсивным окрашиванием от слабее окрашенной оболочки. Это должно служить предостережением для тех гистологов, которые пытаются без размышлений переносить на нуклеин методы окрашивания, предназначенные для хроматина [2*].

ФИЗИОЛОГО-ХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МОЛОКИ ЛОСОСЯ [1*]

ВВЕДЕНИЕ (ДОСЛОВНО ПО РУКОПИСИ АВТОРА)

Среди низших позвоночных, половые продукты которых доступны химическому исследованию, особое место в качестве одного из наилучших объектов занимает рейнский лосось.

В период нереста, ограниченного лишь несколькими неделями (в Базеле с 20 ноября до середины декабря), когда происходит внезапное почти полное опустошение развивавшихся в течение долгого времени половых желез, становится возможным получение больших количеств очень чистого материала — икры и спермы совершенно одинаковой степени зрелости.

Изучение процессов, сопровождающих созревание яйцеклеток (икры) и сперматозоидов (молок) также облегчается благодаря тому, что мужские и женские особи лосося входят в русло Рейна с совершенно редуцированными, неразвитыми половыми органами и что, таким образом, весь цикл постепенного роста половых желез вплоть до момента осуществления ими биологических функций осуществляется до известной степени под наблюдением исследователя, если он находится на берегах реки Рейн; этот цикл включает глубокие гистологические метаморфозы, связанные с процессами интенсивного передвижения веществ, благодаря которым у голодающего животного за счет скелетной мускулатуры поставляется материал для построения яичников и семенников [1].

Уже в 1871 г. меня заинтересовали так называемые молоки лосося,

[1] Vgl. *W. His.* Untersuchungen über das Ei und Eientwicklung bei knochenfischen. Leipzig, 1873.

которые могут быть выделены в виде белой как снег, сметанообразной жидкости из Vas deferens живых или только что убитых самцов лосося и представляют собой исключительно чистую сперму; оказалось, что эти молоки состоят из одних лишь сперматозоидов (без какой-либо примеси незрелых или иных структурных элементов), которые суспендированы в содержащей соли жидкости, практически не содержащей растворенных компонентов органической природы. Таким образом, здесь мы получаем объект, исключительно удобный для гистохимических исследований, материал, работа с которым обещала обнаружение новых ценных фактов и разработку более глубоких представлений о химическом строении клетки и ядра; этими соображениями объясняется целесообразность предпринятых работ, несмотря на большие специфические трудности, которые приходилось преодолевать, имея дело именно с этим материалом.

Поскольку выяснилось, что служебные обязанности и другие затруднения вынуждают меня временно прервать исследовательскую работу, я решил изложить результаты исследований, полученные с ноября 1871 г. до весны 1874 г. в отдельной статье, которая была опубликована в трудах Базельского общества естествоиспытателей [2].

Эту статью я всегда рассматривал лишь как предварительное сообщение по поводу еще не законченного исследования и поэтому не стремился к ее более широкому распространению. С того времени мне удавалось, хотя и с большими перерывами, связанными с выполнением других задач, обращаться снова к работе по изучению спермы рейнского лосося. Наряду с побуждавшими меня к прекращению работы обстоятельствами, среди которых не последнее место принадлежало крайне ограниченной помощи в работе со стороны, стимулирующее влияние в работе оказывало прежде всего исключительно высокое качество материала. Работа с объектом такой чистоты заставляла изменить постановку задачи, сформулировать ее иначе в сравнении с тем, как это делалось в большинстве гистологических исследований до сих пор. В этом случае нельзя было удовлетвориться выуживанием из не поддающейся характеристике массы или коагулята большего или меньшего количества представляющих интерес кристаллических или аморфных препаратов с более или менее постоянными характерными свойствами. Именно при работе с нашим материалом, как нигде более, следовало стремиться к выяснению взаимосвязи между химическим составом и морфологическим строением и к полному разделению сперматозоидов на составные компоненты, подобно тому как это удается сделать при изучении минералов.

В какой мере мне удалось хотя бы приблизиться к указанной цели, квалифицированный читатель должен решить самостоятельно. Лишь шаг за шагом удавалось преодолевать технические трудности. Среди различных аппаратов и методов, которые были созданы в ходе работы и для выполнения которой они оказались необходимыми, следует хотя бы в качестве примера упомянуть такое исключительно удобное приспособление

[2] *F. Miescher.* Die Spermatozoen einiger Wirbelthiere. Ein Beitrag zur Histochemie. Verhandlungen der naturforschenden Gesellschaft in Bazel. Bd. VI, S. 138—208. 1874.

для гистохимических работ, как центрифуга. Прибор, сконструированный механиком Пешелем в Базеле по моим указаниям в 1886 г. и значительно усовершенствованный Ф. Рунне, получил повсеместное распространение в лабораториях, где занимаются физиологией и родственными дисциплинами. Центрифуга, изготовленная Рунне, имеет объем почти 2000 мл и дает с двигателем мощностью $^1/_4$—$^1/_2$ л. с. до 2500 оборотов в минуту, причем при спокойном и бесшумном ходе.

Далее представлены итоги, охватывающие все те результаты моих исследований по сперме лосося, которые не потеряли на сегодняшний день своего значения. Все данные, специально не обозначенные 1874 г., вновь получены или подтверждены с применением новейших методов и приспособлений за последние годы [2*].

Я считаю своим приятным долгом выразить свою искреннюю благодарность г-ну Ф. Глазер-Иоганнесу, владельцу известного рыботоргового предприятия «В. Глазер и сын» и хозяину многих рыболовецких флотилий за исключительно ценную поддержку, предоставление материала и стимулирование работы словом и делом при всех моих исследованиях по биологии рейнского лосося начиная с 1871 г. и по сие время. Лишь неизменной любезностью г-на Глазера объясняется тот факт, что мне представилась возможность в полной мере воспользоваться преимуществами, которые дает Базель в качестве главного центра рыболовства лосося в верхнем течении Рейна. Поэтому можно спокойно утверждать, что г-н Глазер заслуживает не только моей личной благодарности, но что он хорошо послужил и науке в целом.

I. ОБ ЭЛЕМЕНТНОМ СОСТАВЕ ПРОТАМИНА [3*]

При обработке приведенных в последующих разделах результатов изучения состава нуклеиновой кислоты и целых сперматозоидов прежде всего возникла необходимость определить точную элементную формулу протамина.

В сообщении от 1874 г. Мишер [3] привел формулу протамина, которую он вывел на основании данных анализа двойной платиновой соли за вычетом хлорида платины по содержанию C—,H—,N—. Если рассчитать на основании опубликованных тогда величин непосредственно состав двойной соли платины, то можно получить следующую формулу:



$$C_{16}H_{30}N_9O_3,\quad 2HCl,\quad PtCl_4+{}^1/_2H_2O.$$

	Рассчитано, %	Найдено (в среднем), %
C	23,55	23,37
H	4,05	4,28
N	15,46	15,37
Pt	23,92	23,94
Cl	26,13	26,05

[3] A. a. O. und Ber. deutsch. chem. Ges., 1874, Bd. VII, S. 376.

Пикар[4] в том же самом году предположил для платиновой двойной соли формулу $(C_8H_{16}N_{4\frac{1}{2}}O_2HCl)_2PtCl_4$, которая для удобства сравнения с приведенной выше может быть изображена как



$$C_{16}H_{30}N_9O_3,\ 2HCl,\ PtCl_4+H_2O.$$

Таким образом, обе формулы различаются лишь на $^1/_2H_2O$.

К последнему времени относятся некоторые анализы препаратов протаминплатинахлорида, которые имели вид тонкого твердого несклеивающегося порошка, равномерно окрашенного в светло-желтый цвет; в эксикаторе над ангидридом фосфорной кислоты при 50—60° препарат может быть высушен до постоянного веса.

Препарат I. 1) 0,3188 г вещества дают 0,2372 г CO_2, соответственно 0,0745 г C=23,37% и 0,1212 г H_2O, соответственно 0,0134 г H=4,20%; 2) 0,3315 г вещества дают 0,2846 CO_2, соответственно 0,0776 г C=23,40% и 0,1318 г H_2O, соответственно 0,0146 г H=4,40%; 3) 0,3892 г вещества дают, по Виллю и Варрентраппу, 0,0716 г NH_3, соответственно 0,0589 г N=15,13%; 4) 0,2705 г вещества дают при волюметрическом определении 15,25% N. 5) 0,2122 г вещества дают при волюметрическом определении 15,09% N.

Препарат II. 6) 0,3886 г вещества дают 0,3341 г CO_2, соответственно 0,0911 г C=23,41% и 0,1474 г H_2O, соответственно 0,0163 г H=4,19%; 7) 0,2630 г вещества дают по Виллю и Варрентраппу, 0,0479 г NH_3, соответственно 0,0394 г N=14,98%.

Препарат III. 8) 0,7706 г вещества дают 0,1855 г платины=24,07%. Затем в различных препаратах было найдено 24,05; 24,01; 24,05; 24,04; 24,11 и 24,16% платины.

Препарат IV. 9) 0,0997 г вещества дают 0,1077 г AgCl, соответственно 0,0266 г Cl=26, 68%.

Эти величины приводят опять к первой формуле Мишера:



$$C_{16}H_{30}N_9O_3,\quad 2HCl,\quad PtCl_4+{}^1/_2H_2O.$$

	Рассчитано, %	Найдено (в среднем), %
C	23,55	23,40
H	4,05	4,26
N	15,46	15,11
Pt	23,92	24,07
Cl	26,13	26,68

На этом можно было бы считать определение состава протамина законченным. Однако сразу же могло возникнуть сомнение по поводу того, не содержится ли в исследуемом соединении больше чем $^1/_2$ молекулы воды, несмотря на жесткие условия высушивания, поскольку, как известно, двойные соли платины обычно трудно отдают кристаллизационную воду и температура, при которой происходит этот процесс, зачастую лежит столь близко к точке разрушения, что вещество вообще не удается получить в безводном состоянии. Кроме того, при расчетах аналитических

[4] Ber. deutsch. chem. Ges., 1874, Bd. VII, S. 1714.

данных состава сперматозоидов стало совершенно очевидным, что формула протамина должна быть $C_{16}H_{28}N_9O_2$. Возможно, что препараты Мишера содержали 1,5, а препараты Пикара — 2 молекулы H_2O. Поэтому следовало попытаться удалить кристаллизационную воду путем дальнейшего высушивания в более жестких условиях. Для проведения такого опыта в моем распоряжении имелись два препарата протаминплатинахлорида, полученные Мишером; первый препарат был обозначен как «второсортный», а второй — как «сухой, готовый для анализа». Первый препарат мы использовали для предварительных опытов, которые показали, что вещество выдерживает нагревание до 130° в вакууме над серной кислотой, сохранявшей обычную температуру от 18 до 20° без каких-либо признаков разрушения. Как Мишер, так и Пикар указывают на то, что протаминплатинахлорид при 120° плавится и начинается разложение. По-видимому, авторы имели дело с относительно влажными препаратами, и дело заключалось не столько в плавлении, сколько во вскипании и спекании препарата. Оба упомянутых препарата сохраняли при нагревании до 130° в вакууме свою порошкообразную форму. Спустя 1,5—2 сут достигалось полное постоянство веса.

Выполненные моим ассистентом господином д-ром М. Клоетта определения платины и хлора дали для препарата, обозначенного как «готовый для анализа», следующие величины: 1) 0,2855 г вещества оставляют при прокаливании 0,0704 Pt=24,65%; 2) 0,2316 г вещества оставляют 0,0573 г Pt=24,74%; 3) 0,2463 г вещества после осторожного сжигания с содой дают в форме AgCl 0,0649 г Cl=26,35%.

Для другого препарата получены следующие данные: 4) 0,2808 г вещества 0,0684 г Pt=24,36%; 5) 0,2921 г вещества 0,0788 г Cl=24,97%.

Таким образом, были найдены (%):

				Среднее
Pt	24,65	24,74	24,36	24,58
Cl	26,35	—	26,97	26,66

Формула $C_{16}H_{28}N_9O_2$, 2HCl, $PtCl_4$ справедлива, если Pt=24,74, а Cl=27,03.

Эти данные позволяют утверждать, что элементный состав протамина выражается формулой



$$C_{16}H_{28}N_9O_2.$$

Встречающиеся в протоколах экспериментов противоречивые замечания о наличии и отсутствии биуретовой реакции в препаратах спермы и головок сперматозоидов побудили меня провести исследование протамина в этом направлении. Оказалось, что все препараты, даже основание, свободное от солей платины, дают прекрасную реакцию, и при том почти розовато-красное окрашивание, характерное для пептонов, в частности для пептона клейковины. Сам способ приготовления протамина может быть использован в качестве доказательства невозможности присутствия в препарате пептона примесей клейковины или каких-либо иных легкорастворимых белковоподобных веществ. Следует указать, что изолированные головки сперматозоидов, как это ниже более подробно описано, подвергались в работе Мишера 10-кратному тщательному промыванию

водой, до тех пор пока в воду не переходило больше белковых веществ, и лишь после этого материал экстрагировался 5%-ной соляной кислотой для получения протамина.

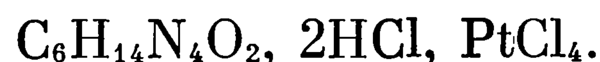
Однако с целью уточнения этого важного вопроса о природе биуретовой реакции протамина я тщательно проверил эту реакцию. Сухую порошкообразную сперму сначала промывали водой, а затем извлекали 0,5—0,7%-ной серной кислотой. Совершенно прозрачный содержащий серную кислоту раствор, получаемый после фильтрования, осаждали избытком чистого гидрата бария, затем осадок отделяли фильтрованием и удаляли из прозрачного, как вода, фильтрата барит пропусканием углекислоты. Фильтрат после точной нейтрализации карбоната бария серной кислотой при нагревании упаривали на водяной бане, полученную сгущенную жидкость растворяли в возможно малом количестве воды, пропускали для удаления следов сульфата бария через плотный фильтр и наконец разбавляли фильтрат сначала большим количеством концентрированной уксусной кислоты и затем этилового спирта, в результате чего протаминсульфат выпадал в осадок в форме вязкой, затвердевающей под влиянием спирта массы.

Как известно, пептон и подобные ему легко растворимые в воде белковые вещества в присутствии таких больших количеств уксусной кислоты не осаждаются спиртом из водных растворов. Протаминсульфат, повторно растворенный в воде и вновь обработанный уксусной кислотой в соответствии с вышеуказанной прописью, давал прекрасную биуретовую реакцию той же интенсивности. Протаминсульфат не очень легко растворяется в воде. Если залить препарат 3—4-кратным объемом воды, то на дне стакана образуется светлая сиропообразная масса, из которой при постоянном перемешивании хорошо отмываются примеси. Такого рода промывание можно много раз повторить без какого-либо ослабления биуретовой реакции, откуда следует, что биуретовая реакция связана с самим основанием, а не с примесями. Таким образом, это своеобразное соединение следует рассматривать как представителя группы белковых веществ, который отличается от пептонов, по существу, только своими основными свойствами. Большое значение этого факта не вызывает сомнения. Другие свойства основания рассмотрены в вышеприведенных статьях автора.

Изучение продуктов распада протамина самостоятельно проводилось ассистентом д-ром Б. Гмелиным, однако эти работы не были завершены. Гмелин нагревал полученный действием сероводорода на платиновую соль свободный солянокислый протамин в растворах, которые содержали 14—15% HCl, в запаянных трубках сначала 18 ч при 125—160° и затем 6 ч при 170° и показал, что около 80% общего азота осаждаются фосфорновольфрамовой кислотой; примерно 9% составлял аммиак, а все остальное приходилось на долю аминокислот. В результате дальнейшего нагревания растворов с 28%-ной HCl при 180° количество осаждаемого фосфорновольфрамовой кислотой азота увеличивалось до 89%.

Гмелин приготовил кристаллизующиеся двойные соли платины и соль серебра, полученные при разложении протамина. Анализы препаратов

платиновых солей дали от 10,14 до 15,54%, в большинстве случаев 12,5% C, 2,5—3,5% H, 8,5—9,6% N, 30,7—33,8% платины, что указывало на присутствие в смеси нескольких оснований. Усреднением наиболее хорошо совпадающих результатов могла быть выведена формула



$$C_6H_{14}N_4O_2, 2HCl, PtCl_4.$$

	Рассчитано, %	Найдено (в среднем), %
C	12,32	12,50
H	2,73	2,85
N	9,58	9,56 *
Pt	33,39	33,84
Cl	36,47	35,71

* За вычетом анализа, давшего 8,66% N.

Конечно, эти препараты также не совсем однородны. Во всяком случае, можно принять, что это основание, в особенности если его формула действительно соответствует $C_3H_7N_2O$, должно иметь очень небольшой молекулярный вес и что при разложении протамина вследствие нагревания с соляной кислотой должны возникать многие молекулы таких оснований. Если же справедлива неподеленная формула $C_6H_{14}N_4O_2$, то она, очевидно, совпадает с формулой аргинина, который недавно обнаружен в числе продуктов расщепления белковых веществ[5].

II. НУКЛЕИНОВАЯ КИСЛОТА СПЕРМЫ ЛОСОСЯ, ПОЛУЧЕНИЕ ЕЕ В ЧИСТОМ ВИДЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСТАВА[4*]

В 1874 г. я опубликовал в трудах Базельского общества естествоиспытателей сообщение о строении и химическом составе сперматозоидов рейнского лосося и осетра. В этой работе было впервые описано богатое фосфором нуклеиновое соединение, которое по даваемым реакциям, свойствам и составу резко отличалось от белковых веществ. Поскольку я еще в то время обратил внимание на сильнокислые свойства полученного соединения, то не могу не согласиться с предложенным Альтманом названием «нуклеиновая кислота».

Хотя сразу же после публикации работы для меня стали очевидными многие ее недостатки и пробелы, в частности в отношении нуклеина, у меня тогда не было возможности продолжить соответствующие химические исследования для выяснения природы этого хрупкого соединения. Однако начиная примерно с 1887 г. мне удалось вернуться к изучению этого вопроса и более или менее постоянно работать в указанном направлении. На первых порах я стремился получить это весьма неустойчивое вещество как можно более очищенным и нативным и установить его состав. Разумеется, можно стать на точку зрения о подчиненном значении информации о свойствах и составе таких весьма сложных тканевых веществ: согласно этой точке зрения интерес имеют только те данные, ко-

[5] Zeitschr. physiol. Chem., 1895, Bd. XX, S. 186 und 1896, Bd. XXI, S. 155.

торые получены при изучении кристаллических продуктов расщепления, полученных путем кислотного гидролиза; задача, таким образом, сильно упрощается. Не вдаваясь в рассмотрение этого вопроса, я прямо перехожу к описанию метода получения.

Получение очищенной нуклеиновой кислоты. Еще в 1874 г. я указывал на обстоятельство, что в ходе получения препаратов содержание в них фосфора может снижаться за счет отщепления богатых фосфором продуктов. Эта трудность тогда казалась непреодолимой. Однако после обнаружения Косселем ксантиновых веществ (вероятность существования которых я, впрочем, уже предполагал на основании сообщения Пикара[6]) как продуктов распада нуклеиновой кислоты, оказалось, что опасность, грозящая исследователю с этой стороны, еще более значительна. В то время как при некотором опыте работы вскоре удалось ограничить отщепление фосфора до следовых количеств даже в самых, казалось бы, удачных препаратах, в фильтратах обнаруживали заметные количества соединений серебра. Эти соединения получали путем обработки фильтрата аммиаком и нитратом серебра, и они имели вид характерного студенистого осадка. Особенно отмечу опасность, связанную с применением разбавленной соляной кислоты, используемой для отщепления солеобразно связанного основания протамина, в то время как описываемая ниже осторожная обработка щелочными растворами на холоду не сопровождается никакими нежелательными последствиями. Удаление ксантиновых тел приводит, однако, к увеличению содержания фосфора и уменьшению содержания азота. При применении кислот слабых концентраций реакция с аммиаком и нитратом серебра всегда оказывалась достаточно чувствительной и пригодной для количественных определений.

Лишь после большого числа экспериментов, проводившихся при постоянном контроле фильтратов, мне наконец в какой-то мере удалось избежать отщепления ксантиновых тел и получить препараты, анализ которых позволил установить с достаточной степенью вероятности истинный состав нуклеиновой кислоты. Как и в случае получения гемоглобина, здесь первостепенное значение имеет работа в условиях охлаждения. Помещение должно быть охлаждено до такой степени, чтобы температура жидкости во время фильтрования и центрифугирования не превышала 2—3°; необходимым условием является строжайшее соблюдение условий охлаждения до 0° во время любой сколько-нибудь продолжительной обработки кислыми или щелочными растворами. Эти требования, к сожалению, не так уж легко можно обеспечить в наших климатических условиях. Если в случае гемоглобина неудачный препарат сразу удается распознать по недостаточной окраске, а еще более точно путем спектрофотометрии (сравни работы Хюфнера), то при работе с нуклеиновой кислотой складывается куда менее выгодное положение: когда белоснежный, по виду безукоризненный препарат, полученный без контроля фильтратов, содержит на удивление мало азота.

[6] Ber. deutsch. chem. Ges., 1874, Bd. VII, S. 1714.

Для получения нуклеиновой кислоты желательно использовать наиболее близкие к зрелости семенники лосося, дающие сметанообразную поверхность срезов, по возможности в стадии обескровливания. Органы растирают, промывают водой с декантацией, освобожденную эмульсию осаждают несколькими каплями уксусной кислоты, причем образуется мелкий осадок, который отделяют путем фильтрования или центрифугирования. Белую массу затем несколько раз извлекают крепким этиловым спиртом при температуре около 60° в течение нескольких часов и каждый раз осадок промывают спиртом и эфиром на бунзеновском фильтре. Эту операцию достаточно повторить четыре раза. Если дальнейшая обработка производится не сразу, то обезжиренный материал следует хранить под этиловым спиртом. В виде порошка при хранении на воздухе или в закрытых сосудах препарат быстро изменяется, во всяком случае, настолько, что уже не удовлетворяет всем требованиям.

Для дальнейшей работы лучше всего следует пользоваться еще несколько влажным от спирта препаратом обезжиренной спермы. 60—70 г такого материала как можно тщательнее растирают приблизительно с 700 мл чистой 0,5%-ной соляной кислоты и при частом перемешивании оставляют стоять в ледяной воде в течение нескольких часов, затем фильтруют через фильтр Бунзена и весь процесс повторяют сначала столько раз, сколько это необходимо. Кислоту предварительно охлаждают до 0°. Первые две вытяжки могут быть использованы в качестве источника для получения протамина, который количественно осаждается из раствора при добавлении хлорида платины. Опасность появления ксантиновых тел возникает, как правило, лишь начиная с третьей экстракции и может быть предотвращена именно путем охлаждения и за счет быстрой работы. После 4—5 экстракций при условии тонкодиспергированного осадка фильтрат должен оставаться прозрачным при добавлении ферроцианида калия, который даже в самых разбавленных растворах протамина вызывает появление напоминающей молоко мути.

Обработанную соляной кислотой массу спермы, помещенную в ледяную баню, следует лучше всего распределить на две порции, работа с каждой из которых занимает один день. Все необходимые реактивы (раствор едкого натрия, спирт, соляная кислота) перед употреблением должны быть охлаждены до 0°. Разумеется, что для работы следует выбрать по возможности наиболее холодный день, когда удается хорошо охладить помещение. Предназначенная для получения нуклеиновой кислоты порция спермы тонко растирается с 0,25—0,50%-ной охлажденной соляной кислотой (в холодной воде материал набухает и становится комковатым), а затем раствор насыщают свободной от фосфора содой до того момента, когда смесь станет отчетливо едкой на вкус, после этого смесь сейчас же помещают опять в воду со льдом или снегом приблизительно на один час. За это время приготавливают около 15 маленьких складчатых фильтров, причем большое значение здесь имеет выбор бумаги, что уже является делом опыта. Через час приступают к фильтрованию. Фильтры легко забиваются и обычно их приходится часто заменять, именно поэтому следует заготовлять столь большое число фильтров.

Слегка окрашенные в винно-желтый цвет фильтраты прежде всего охлаждают, а затем, когда соберется достаточное количество раствора, слегка нейтрализуют, прикапывая из бюретки наполовину разбавленную концентрированную соляную кислоту, наблюдая при этом, чтобы не образовывалось стойкого помутнения; раствор затем опять охлаждают. Наконец, с помощью соляной кислоты указанной выше концентрации производят осаждение при сильном размешивании, однако полнота осаждения достигается только после добавления двух объемов крепкого винного спирта. Каждая выпавшая в осадок порция немедленно переливается в охлажденный сосуд, заранее помещенный в воду со льдом. Осадок должен иметь вид белоснежного грубого порошка, который легко оседает на дно сосуда. Следует отбрасывать препараты, которые имеют вид хлопьев, остающихся висеть в виде склеившейся массы на стеклянной палочке.

При осаждении необходим некоторый избыток соляной кислоты, что объясняется сильнокислыми свойствами вещества. Немедленно после осаждения следует приступить к отделению осадка центрифугированием; ни в коем случае нельзя оставлять осадок на ночь с избытком кислоты даже при 0° — это пагубно сказывается на результатах всей работы. После центрифугирования осадок дважды промывают довольно большими объемами 60%-ного спирта, каждый центрифугируя; полученный в результате препарат может считаться чистым. Такие препараты, например, не содержат вообще Cl или же имеют лишь незначительные следы его, которые могут быть учтены при определении фосфора и приняты в расчет в форме NaCl. В спиртовые промывные воды, в особенности во вторую, переходят заметные количества нуклеиновой кислоты, которую можно осадить хлористым барием и аммиаком в виде бариевой соли. Готовый препарат нуклеиновой кислоты может быть сохранен под большим слоем спирта как угодно долго.

Предложенные прописи относятся в первую очередь к получению препаратов, которые должны удовлетворять самым строгим требованиям. Однако даже тот исследователь, который захочет получить материал, пригодный для экспериментов по разложению после некоторого опыта работы, вероятно, придет к заключению о целесообразности не слишком больших отклонений от рекомендованных выше правил.

Высушивание. Хотя нуклеиновая кислота в воде растворима лишь в ограниченной степени, она все же обладает некоторой гигроскопичностью, что, вероятно, связано с возможностью возникновения слабых химических взаимодействий, и поэтому лишь с трудом до конца отдает связанную воду. Высушивание на воздухе при 100—110° сопровождается началом разложения, да и к тому же вообще не способствует достижению цели. Отсюда следует, что надо было попытаться осуществить интенсивное высушивание при умеренной температуре не выше 60—65°.

На первых порах я предпринял модификацию принципа, использованного, как мне известно, Шмидебергом[7] в его работе по изучению углеводов клубней Scilla, и сконструировал сушильный аппарат, в котором

[7] Zeitschr. physiol. Chem., 1879, Bd. III, S. 112.

сочетались вакуум, умеренная температура и водоотнимающие средства. Через воздушную баню с двойными стенками системы «Зелиг» в Гейльбронне были пропущены четыре широкие медные трубки, в которых находилась подвижная полоска металла (примерно той же длины, что трубка), которая поддерживалась припаянными к стенке трубки кусками проволоки. Один конец трубки мог закрываться посредством крышки с хорошим винтовым затвором и свинцовым уплотнением и оставался водонепроницаемым при повышенной температуре. Выступающие над воздушной баней крышка и винты прикрывались специальной фетровой покрышкой, чтобы предотвратить охлаждение. На противоположной стороне четыре металлические трубки переходили в 4 очень узкие медные трубочки, каждая из которых была присоединена к ртутному вакуумметру. Эти четыре вакуумметра, каждый с дренажной трубкой и насадкой для воздушного насоса, помещались на теплоизолированной прокладке на крышке воздушной бани. Длинные, ничем не покрытые медные трубочки необходимы были для того, чтобы предотвратить разогревание кранов, которые иначе утратили бы свою плотность. Естественно, что расположенные в воздушной бане трубки, а также находящиеся в них вещества имели несколько более низкую температуру, чем в воздушной бане; эта разница составляла несколько градусов и измерялась в соответствующих контрольных опытах.

Предназначенные для высушивания вещества помещаются в изготовленные ad hoc стеклянные лодочки, которые по 2—4 штуки вставляются в трубки. Одни лодочки содержат ангидрид фосфорной кислоты, другие — высушиваемый препарат. Разумеется, фосфорный ангидрид не должен содержать даже следов фосфорной кислоты, которая летуча при тех температурах, устанавливающихся в приборе. Лодочки устанавливаются на упомянутых выше металлических пластинках и могут вместе с ними вдвигаться в трубку и выдвигаться наружу. При откачивании воздуха, а также при его впуске следует соблюдать осторожность, дабы предотвратить распыление.

Я привожу здесь описание этого аппарата, который работает удовлетворительно, хотя и несколько медленно, поскольку это описание может оказаться полезным для специалиста, столкнувшегося с подобными трудностями. Для высушивания нуклеиновой кислоты я нашел способ столь же хорошего высушивания за значительно более короткий срок путем пропускания над веществом, находящимся в воздушной бане при 60—65°, тока хорошо высушенного водородного газа. Сушку газового потока производили в обычно используемом в элементном анализе сушильном аппарате, к которому на выходе была присоединена еще одна трубочка с ангидридом фосфорной кислоты. Вместо хорошо известного затвора Либиха я применил изготовленную по моим указаниям Францем Мюллером слепо оканчивающуюся стеклянную трубку, на другом конце которой находилась стеклянная пробка. Эта трубка при помощи большой корковой пробки вставлялась в широкую трубку собственной воздушной бани и легко могла оттуда быть убрана. В полую стеклянную пробку были вплавлены две трубочки, доходившие до дна стеклянной трубки;

вышедшие наружу концы этих трубочек лишь настолько выступали над стеклянной пробкой, чтобы их можно было с удобством закрывать посредством резиновых трубочек со стеклянными пробками. Главная трубка имела лишь у горловины форму цилиндра, в остальной части трубка была, с одной стороны, несколько раздута, а с другой — уплощена так, чтобы образовалось своего рода дно и чтобы одновременно можно было в нужном направлении поворачивать пробку с трубочками, не затрагивая при этом лежащее на дне трубки вещество.

Это приспособление, в шутку названное моими помощниками сушильным жуком, оказало мне большие услуги. Устройство позволяет для трубки, через которую поступает газ, и для трубки, через которую газ выходит, иметь единый патрубок воздушной бани. Приспособление легко может быть снято с прибора для сушки и опять поставлено на место и, кроме того, без всяких изменений может быть взвешено с затвором или без него на любых весах с не слишком узкими чашками, что позволяет полностью исключить увлажнение препарата. Перед взвешиванием водород каждый раз заменяли сухим воздухом.

Процесс сушки нуклеиновой кислоты, проводимый указанным способом, занимал несколько, обычно не более 4—5 дней (исключая ночные часы) при 60—65°, достигнутый в результате постоянный вес более уже не изменялся, если вещество после высушивания помещалось на 1—2 нед в описанный выше большой вакуум-эксикатор.

Аналитические методы. Доктор Б. Гмелин составил подробное, снабженное иллюстрациями описание методов анализа различных элементарных компонентов, свидетельствующее о большой тщательности, с которой была выполнена и эта часть исследований. Каждый реактив перед употреблением проверялся на чистоту, величина ошибки при определении C, H и N определялась путем анализа известных соединений, например мочевины, кофеина, а при анализах со сжиганием особое внимание обращалось на предотвращение доступа влаги. Сжигание начинали лишь после того, как вес хлоркальциевой трубки не прибавлялся при пропускании через нее воздуха из трубки для сжигания. Для определения содержания C и H в нуклеиновой кислоте препарат тщательно смешивали в сухих закрытых трубочках с хромовокислым свинцом, к которому добавлено 10% хромовокислого калия, эту смесь затем помещали в лодочку, последнюю вдвигали в трубки для сжигания, содержащие хромовокислый калий и хромовокислый свинец и снабженные оголенными медными спиралями. В случае сжигания веществ, содержащих хлор, например протаминплатинахлорида, в трубку вносили только хромовокислый свинец.

В отношении определения N следует отметить, что анализ по методу Кьельдаля давал заниженные величины. При волюметрическом методе CO_2 не вводили, используя для этой цели образование CO_2 из магнезита, который помещали в трубку.

Для определения фосфора Мишер пользовался методами, которые в связи с появившимися в печати (Zeitschr. für anal. Chem.) работами Лоренца, Вагнера, Фёрстера и др. подверглись в ходе исследования различным модификациям. В конце концов была принята следующая описы-

ваемая ниже процедура. Вещество растворяли в воде с 10 частями (по весу) смеси равных долей соды и селитры, раствор упаривали, осадок досуха высушивали и сжигали, сплавившуюся массу переносили в воду, если присутствовал хлор, его удаляли в виде хлорида серебра, после того как жидкость была подкислена небольшим избытком азотной кислоты. К свободному от хлора. раствору добавляли 1 мл молибденового реактива на каждый миллиграмм $Mg_2P_2O_7$, а также $^1/_5$ по объему 60%-ного раствора нитрата аммония. В итоге осаждение производилось по прописи Вагнера, а именно в присутствии 15%-ного нитрата аммония, поскольку 3% этой соли (от объема осаждаемого раствора) вносили с молибденовым реактивом.

Молибденовую соль доводят до 80—90° нагреванием на водяной бане, затем оставляют на несколько часов на холоду и сначала промывают остающийся на фильтре осадок раствором, содержащим 10% нитрата аммония и 1% азотной кислоты, а затем растворяют его в смеси лимонной кислоты и аммиака в воде (2% лимонной кислоты, 2,5% концентрированного аммиака), слегка при этом нагревая, и наконец осаждают магнезиальной смесью, которую добавляют струей из бюретки при сильном перемешивании; смесь оставляют на холоду. Осадок промывают 2,5—3%-ным раствором аммиака до исчезновения реакции на хлор, обливают несколькими каплями 5%-ного раствора нитрата аммония, высушивают при 100° и озоляют. Образуется белоснежная порошкообразная масса $Mg_2P_2O_7$.

Анализы нуклеиновой кислоты. Проводимые ниже и обозначенные в соответствии с записями экспериментов препараты были получены описанными выше методами.

Препарат $F_{6\,I}$. Хорошо обезжиренную сперму экстрагировали 5 раз при очень низкой температуре 5%-ной соляной кислотой и одну часть использовали для получения нуклеиновой кислоты, работая в интервале температур от 0 до 4°. Последние фильтраты щелочного раствора нуклеиновой кислоты были получены спустя 3 ч после добавления соды. Растворы «не уступали по своей прозрачности самому светлому мозельскому вину» и содержали исключительно много нуклеиновой кислоты. При осаждении соляной кислотой и спиртом при температуре тающего льда выпадал белый мелкохлопьевидный неслипающийся осадок, который хорошо промывается 60%-ным спиртом.

Из другой части обработанной соляной кислотой спермы был таким же образом получен препарат нуклеиновой кислоты $F_{6\,II}$, предназначенный для определения фосфора.

Этот препарат сушили в вакууме при 75°. Он представлял собой тонкий мучнистый порошок, слегка окрашенный в желтый цвет.

I. Определение С и Н, %

Вещество	CO_2	C	C	H_2O	H	H
1. 0,2847	0,3963	0,1081	37,96	0,1433	0,0125	4,39
2. 0,3353	0,4655	0,1269	37,85	0,1664	0,0184	5,48
3. 0,2889	0,3995	0,1089	3,69	0,1138	0,0126	4,34

4. 0,2098	0,2913	0,0794	37,83	0,0874	0,0097	4,62
5. 0,3068	0,4285	0,1168	38,07	0,1589	0,0176	5,73
6. 0,3623	0,4990	0,1361	37,57	0,1464	0,0162	4,47
7. 0,2885	0,3995	0,1089	37,74	0,1165	0,0129	4,47
8. 0,2802	0,3886	0,1069	37,82	0,1142	0,0127	4,53
9. 0,2663	0,3689	0,1006	37,76	0,1086	0,0121	4,54
10. 0,2917	0,4050	0,1104	37,84	0,1197	0,0133	4,55
11. 0,2436	0,3384	0,0923	37,88	0,0991	0,0110	4,51
В среднем			37,82			4,49

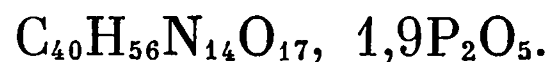
II. Определение N, %

Вещество	NH_3	N	N
1. 0,1711	0,0328	0,0270	15,78
2. 0,1840	0,0352	0,0290	15,76
В среднем	—	—	15,77

III. Определение P, %

Вещество	$Mg_2P_2O_7$	P_2O_5	P_2O_5	
1. 0,4607	0,1325	0,0847	21,14	$F_{6.I}$
2. 0,4291	0,1405	0,0899	20,95	$F_{6.I}$
3. 0,4219	0,1381	0,0893	20,93	$F_{6.II}$
4. 0,4270	0,1404	0,0898	21,03	«Нуклеиновая кислота, 1887 г.»
В среднем	—	—	21,01	

При расчете из этих величин наиболее соответствующей формулы с наименьшим молекулярным весом ею оказалась следующая:

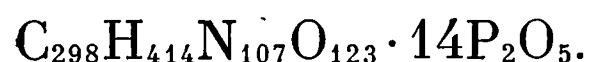


$$C_{40}H_{56}N_{14}O_{17},\ 1{,}9P_2O_5.$$

	Рассчитано, %	Найдено, %
C	37,68	37,82
H	4,39	4,49
N	15,38	15,77
P_2O_5	21,18	21,01

При выведении этой формулы следовало принимать во внимание прежде всего тот факт, что нуклеиновая кислота в процессе выделения теряет $^1/_{10}$ атома своего фосфора. Хотя такая потеря фосфора при описанных выше мерах предосторожности в процессе получения препарата (с. 131, 132) и казалась не очень вероятной и хотя несколько завышенные по сравнению с расчетными количества для C и N скорее могли служить указанием на примеси инородных веществ, все же прежде всего следовало придерживаться нашего предположения, особенно в свете такого факта, что описанный ниже препарат F_7 терял даже от $^1/_{10}$ до $^2/_{10}$ атомов фосфора, которого и недоставало для подтверждения справедливости приведенной выше формулы. Лишь при расчете результатов анализа головок сперматозоидов с несомненностью было установлено, что анализируемые нуклеиновые кислоты должны содержать некоторое количество протамина. Последний не только не удаляется полностью при экстракции

головок сперматозоидов 0,5%-ной соляной кислотой, но более того, примерно половина его остается в этих структурных образованиях, как это будет продемонстрировано ниже. Часть этого остаточного протамина переходит в процессе получения нуклеиновой кислоты вместе с ней в щелочной раствор. Когда последний подкисляют соляной кислотой, основание распределяется между обеими кислотами, и в результате осаждаемая спиртом нуклеиновая кислота содержит протамин. Это обстоятельство может послужить для удовлетворительного объяснения малых отклонений найденных величин от требуемых в вышеприведенной формуле. Если мы теперь рассчитаем формулу таким образом, чтобы величины содержания фосфора или P_2O_5 выражались целым числом, а не дробью и количества атомов других элементов тоже будут выражены целыми числами, то получим формулу



$$C_{298}H_{414}N_{107}O_{123} \cdot 14P_2O_5.$$

За вычетом 1 молекулы протамина $= C_{16}H_{28}N_9O_2$ получаем $C_{282}H_{386}N_{98}O_{121} \cdot 14P_2O_5$; в этой формуле в соответствии с ранее приведенной формулой должны содержаться 7 молекул нуклеиновой кислоты, а 1 молекула нуклеиновой кислоты, следовательно, имеет состав $C_{40,3}H_{55}N_{14}O_{17,3} \cdot 2P_2O_5$.

Отсюда следует, что для анализируемой нуклеиновой кислоты можно принять следующую округленную формулу:



$$7(C_{40}H_{54}N_{14}O_{17} \cdot 2P_2O_5) + C_{16}H_{28}N_9O_2.$$

Нуклеиновая кислота	Требуется, %	Протамин Найдено, %
C	37,86	37,82
H	4,32	4,49
N	15,97	15,77
P_2O_5	21,19	21,01

По этой формуле нуклеиновая кислота содержит на два атома водорода меньше, чем по предыдущей, поскольку раньше не принимался во внимание при расчете значительно более богатый водородом протамин.

Анализы двух других препаратов были пересчитаны подобным образом. Препарат F_7 был получен с теми же мерами предосторожности, как предыдущий, и при тех же низких температурах. Он «имеет хороший вид, слегка окрашен в желтый цвет». Высушен в вакууме при 60—70° C.

I. Определение C и H в препарате F_7, %

Вещество	CO_2	C	C	H_2O	H	H
1. 0,3019	0,4200	0,1145	37,92	0,1261	0,0140	4,63
2. 0,2437	0,3372	0,0919	37,71	0,0982	0,0109	4,47
3. 0,2617	0,3643	0,0993	37,94	0,1064	0,0118	4,50
4. 0,2460	0,3395	0,0926	37,64	0,1000	0,0111	4,51
5. 0,2904	0,4041	0,1102	37,94	0,1158	0,0128	4,40
6. 0,2572	0,3578	0,0976	37,94	0,1031	0,0114	4,43
7. 0,3089	0,4314	0,1176	38,06	0,1216	0,0135	4,37
8. 0,2975	0,4143	0,1129	37,94	0,1178	0,0131	4,40
9. 0,3213	0,4438	0,1210	37,67	0,1379	0,0153	4,76
10. 0,2370	0,3304	0,0901	38,01	0,0941	0,0104	4,38
В среднем			37,88			4,48

II. Определение N в препарате F_7, %

Вещество	NH_3	N	N	
1. 0,2328	0,0452	0,0372	15,97	Кьельдаль
2. 0,2662	0,0513	0,0422	15,85	»
3. 0,2303			15,76	Определение объема N
4. 0,2321			15,87	»
В среднем			15,86	

III. Определение P в препарате F_7, %

Вещество	$Mg_2P_2O_7$	P_2O_5	P_2O_5
1. 0,2539	0,0817	0,0523	20,58
2. 0,3955	0,1282	0,0820	20,73
3. 0,4078	0,1323	0,0846	20,74
В среднем			20,68

Препарат. $F_{8\,I}$. Приготовлен так же, как предыдущие. Температура щелочных фильтратов только один раз поднималась до 6,5°. Высушен в токе водорода. При анализе получены следующие цифры.

Вещество	CO_2	C	C, %	H_2O	H	H, %
1. 0,1998	0,2781	0,0758	37,93	0,0819	0,0091	4,55
2. 0,3430	—	—	—			
3. 0,3401	—	—	—			
4. 0,4211	—	—	—			
5. 0,5225	—	—	—			
В среднем	—	—	37,93	—	—	4,55

	NH_3	N	N, %	$Mg_2P_2O_7$	P_2O_5	P_2O_5, %
1.	—	—	—	—	—	—
2.	0,0648	0,0534	15,57	—	—	—
3.	0,0649	0,0534	15,70	—	—	—
4.				0,1382	0,0893	20,96
5.				0,1709	0,1093	20,91
В среднем			15,63	—	--	20,94

Анализы следующего препарата, по-видимому $F_{6.II}$, не могут приниматься в расчет, поскольку результаты определения C и H согласно приложенным замечаниям недостоверны.

Два последних препарата, а именно F_7, содержат, судя по количеству фосфора, несколько меньше нуклеиновой кислоты, а значит, больше протамина в сравнении с препаратом $F_{6\,I}$. Расчет показывает, что на 5—6 молекул нуклеиновой кислоты приходится 1 молекула протамина, как это следует из приводимой ниже формулы:



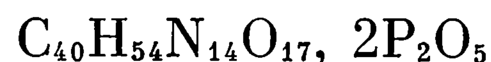
$$11(C_{40}H_{54}N_{14}O_{17},\ 2P_2O_5)+2(C_{16}H_{28}N_9O_2).$$

Нуклеиновая кислота — Протамин

	Рассчитано, %	Найдено, %
C	38,00	37,90
H	4,36	4,51
N	16,15	15,75
P_2O_5	20,96	20,81

Отсюда следует, что полученные указанным способом препараты нуклеиновой кислоты содержат приблизительно 1—5% протамина в форме соли нуклеиновой кислоты. Поскольку нуклеиновая кислота при воздействии более сильных кислот легко разлагается или расщепляется уже при комнатной температуре, то маловероятным представляется ее получение из спермы лосося в свободном состоянии, совершенно лишенной протамина. Приготовление солей с постоянным содержанием оснований представляет большие трудности в связи с многоосновным характером этой кислоты. Бариевые соединения, полученные путем осаждения хлористым барием нейтральных аммиачных растворов нуклеиновой кислоты, содержали 13,28; 12,98 и 12,03% Ba. В соли или смеси солей, где на каждые 2 молекулы нуклеиновой кислоты приходится 3 атома бария, должно содержаться 13,80% Ba. Однако эти анализы носят скорее ориентировочный характер, и результаты не могут рассматриваться как окончательные.

Таким образом, на основании совокупности изложенных выше результатов исследований можно сделать вывод о том, что чистая нуклеиновая кислота из спермы лосося, или, как ее назвал автор, сальмонуклеиновая кислота, построена в соответствии с формулой



$$C_{40}H_{54}N_{14}O_{17},\ 2P_2O_5$$

и должна содержать 22,08% P_2O_5 или 9,62% P. Следует отметить, что Мишер еще в 1874 г.[8] нашел в четырех различных препаратах 9,53, 9,55, 9,67 и 9,61%, в среднем 9,59% P, в то время как теперешние препараты содержат только 9,0—9,2% P. Эти препараты, очевидно, богаче протамином, чем приготовленные ранее; это, вероятно, может быть объяснено тем обстоятельством, что в более ранних опытах по выделению нуклеиновой кислоты сперму экстрагировали 1%-ной соляной кислотой при обычной температуре, а позднее экстракцию вели 0,25—0,5%-ной кислотой при 3—4° и что, таким образом, в первом случае удаление протамина было куда более полным, чем во втором. Тот факт, что тогда же не удалось установить окончательно формулу нуклеиновой кислоты, очевидно, связан с невозможностью преодолеть все затруднения, возникающие при определении C и H. Целый ряд опытов по сжиганию, проведенных в настоящее время, потерпели неудачу, поскольку сплавленная в лодочке метафосфорная кислота еще содержала немного угля. В 1874 г. Мишер нашел[9] в соли, полученной при осаждении нейтрального раствора аммонийной соли нуклеиновой кислоты нейтральным раствором солянокислого протамина, 5,96; 5,91 и 5,79%, а в среднем 5,89% P. В нуклеиновокислом протамине с двумя молекулами последнего должно содержаться 6,07% P. Мы в дальнейшем встретимся с этой нейтральной солью как компонентом интактных головок сперматозоидов, в то время как после экстракции этого соединения соляной кислотой остается кислая соль, содержащая на одну молекулу нуклеиновой кислоты одну молекулу протамина. Все результаты, полученные при исследовании головок сперматозоидов, пол-

[8] Die Spermatozoen einiger Wirbelthiere, a.a.O. S. 167.

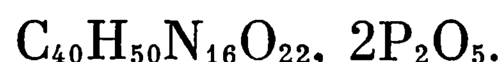
[9] a a.O., S. 169.

ностью согласуются с предложенным здесь составом протамина и сальмонуклеиновой кислоты.

Значительный интерес представляют анализы препарата нуклеиновой кислоты, полученного из дрожжей. Эти данные были, согласно записям Мишера, сообщены ему в 1889 г. Альтманом, который установил, что указанный препарат представляет собой аммонийную соль нуклеиновой кислоты[10]. Высушивание перед анализом производилось в «сушильном жуке». Вещество при сжигании вспенивалось куда сильнее, чем нуклеиновая кислота из спермы.

	Найдено, %			Среднее, %
C	34,24	34,02	33,95	34,07
H	4,33	4,23	4,36	4,31
N	16,01	16,13	15,94	16,03
P_2O_5	20,25	—	—	20,25

На основании приведенных величин может быть выведена формула



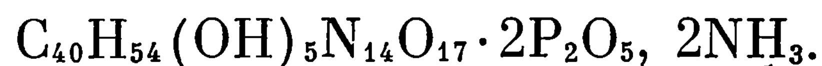
$$C_{40}H_{50}N_{16}O_{22},\ 2P_2O_5.$$

	Рассчитано, %	Найдено, %
C	34,31	34,07
H	4,21	4,31
N	16,01	16,03
P_2O_5	20,30	20,25

Исходя из того что речь идет о соли аммония и что сальмонуклеиновая кислота с двумя молекулами протамина образует нейтральную соль, можно предположить, что и в дрожжевом препарате содержится две молекулы NH_3.

Определить аммиак, по-видимому, не удалось. Высушенный материал смачивали сначала спиртом, затем заливали баритовой водой и, согласно методу Шлезинга[11], оставляли на холоду на 18 ч. Было найдено только 0,2% NH_3. Однако сразу же образующийся на поверхности зернышек материал нерастворимый в воде нуклеиновокислый барий препятствует выделению аммиака.

Если вычесть эти две молекулы NH_3, то выяснится, что дрожжевая нуклеиновая кислота отличается от сальмонуклеиновой лишь тем, что она содержит на 5H и 5O, или же 5(OH) больше. Формула аммонийной соли дрожжевой нуклеиновой кислоты для сравнения с нуклеиновой кислотой лосося может быть выражена и таким путем:



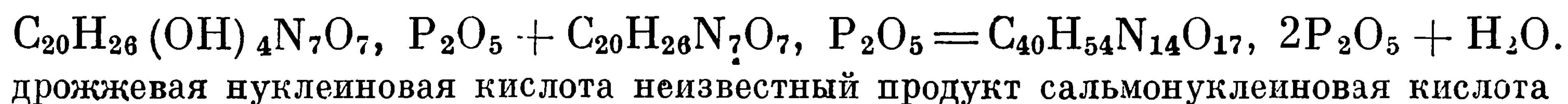
$$C_{40}H_{54}(OH)_5N_{14}O_{17}\cdot 2P_2O_5,\ 2NH_3.$$

Разумеется, этот препарат не представляет собой просто пятикратно гидроксилированную сальмонуклеиновую кислоту, а, напротив, является более насыщенным соединением. Нет сомнений, что эти два вещества на-

[10] По вопросу о получении препаратов см.: *Altmann.* Archiv. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abtheilung, 1889, S. 526.

[11] Vgl. *Altmann.* a.a.O., S. 527.

ходятся в близком родстве. В отношении характера этого родства нельзя исключить предположение, что мы имеем дело не с нативными нуклеиновыми кислотами, а с продуктами их расщепления. Так, например, сальмонуклеиновая кислота могла бы состоять из двух неодинаковых частей, согласно следующей схеме:



$$C_{20}H_{26}(OH)_4N_7O_7,\ P_2O_5 + C_{20}H_{26}N_7O_7,\ P_2O_5 = C_{40}H_{54}N_{14}O_{17},\ 2P_2O_5 + H_2O.$$

дрожжевая нуклеиновая кислота неизвестный продукт сальмонуклеиновая кислота

Одна часть должна была бы, следовательно, представлять собой четырежды гидроксилированный продукт другой. В процессе приготовления дрожжи обрабатываются щелочным раствором для того, чтобы отщепить нуклеиновую кислоту от нуклеина. Состав последнего до сего времени еще не изучен, а в сперме лосося нуклеин вообще отсутствует. Если же вещество, изолированное Альтманом, является нативной нуклеиновой кислотой, то его можно было бы специально обозначить как миконуклеиновую кислоту в отличие от сальмонуклеиновой.

Продукты расщепления сальмонуклеиновой кислоты. Исследования процесса расщепления нуклеиновой кислоты были прерваны уже на самом начальном этапе. Как было указано выше (с. 131), под влиянием кислот прежде всего легко образуются ксантиновые тела, т. е. продукты, осаждающиеся аммиачным раствором серебра. Серебряные соли ксантина прочно связываются с другими веществами при осаждении, например, ксантин потом не удается до конца отделить от гематина при обработке разбавленной соляной кислотой[12]. В связи с этим возникает законный вопрос о том, происходят ли ксантиновые тела из молекулы нуклеиновой кислоты или же только связаны с ней солеобразно, подобно протамину, а может быть, и вообще независимы от нее. При извлечении протамина 0,5%-ной соляной кислотой на холоду две первые вытяжки совершенно свободны от таких «ксантиновых тел», которые в заметных или даже существенных количествах появляются лишь в третьей и четвертой вытяжках. Эти данные позволяют сделать вывод о том, что отщепления ксантинов действительно имеют место. В специальном эксперименте нуклеиновую кислоту подвергали нагреванию на водяной бане с соляной кислотой при размешивании в течение получаса, в результате полученный после осаждения серебром из аммиачного раствора препарат составлял около 50% исходной нуклеиновой кислоты. По поводу природы веществ, которые входят в состав этого осадка, никаких сведений не имеется.

Настоящее расщепление проводилось путем нагревания с соляной кислотой в автоклаве. Помещаемый в закрытом сосуде раствор содержал около 5,5% нуклеиновой кислоты и 7% HCl. Нагревание вели в течение 6—7 ч при 120°. Затем жидкость упаривали с серной кислотой на водяной бане, удаляли HCl и водный раствор осаждали фосфорновольфрамовой кислотой. Точные исследования полученного при этом осадка не проводились. Однако после разложения с помощью барита из осадка были по-

[12] Vgl. *Cloetta.* Archiv f. exp. Path. u. Pharm., 1895, Bd. XXXVI, S. 356.

лучены великолепные, имеющие длину до 3 см, гибкие, радиально упорядоченные листочки. Свободный от оснований фильтрат освобождали от фосфорновольфрамовой и серной кислот путем добавления гидрата бария, после чего избыток барита удаляли добавлением требуемого количества серной кислоты. При упаривании маточного раствора сначала выпадают образующие перистые скопления игольчатые кристаллы, или ланцетовидные пластинки. После полного удаления этих кристаллов в маточном растворе при медленном охлаждении наблюдалось выпадение чешуевидных кристаллов, образующих на дне сосуда некое подобие мшистого дерна. Были проведены четыре последовательных кристаллизации и полученные кристаллы отдельно анализировались. Высушивание проводили в вакуум-эксикаторе.

Вещество	CO_2	C	C, %	H	H, %	H_2O
1. 0,2349	0,4038	0,1101	46,87	0,0110	4,68	0,0992
2. 0,2504	0,4310	0,1175	46,92	0,0117	4,67	0,1053
3. 0,1213	0,2089	0,0570	46,99	0,0055	4,53	0,0495
4. 0,1988	0,3411	0,0930	46,78	0,0089	4,48	0,0804
5. 0,1311						
6. 0,2203						
7. 0,1815						
8. 0,2073						
В среднем			46,89		4,59	

	NH_3	N	N,%	
1.	—	—	—	1-я фракция кристаллов
2.	—	—	—	1-я » »
3.	—	—	—	3-я » »
4.	—	—	—	4-я » »
5.	—	—	22,20	1-я » »
6.	—	—	22,19	1-я » »
7.	0,0469	0,0386	21,27	3-я » »
8.		—	22,26	4-я » »
В среднем			21,98	

Анализ кристаллизата II дал следующие результаты: 1) 0,1233 г вещества дают 0,2155 г CO_2, соответственно 0,0588 г C=47,68% и 0,0522 г H_2O, соответственно 0,0058 г H=4,7%; 2) 0,1255 г вещества дают 0,2198 г CO_2, соответственно 0,0599 г C = 47,72% и 0,0531 г H_2O, соответственно 0,0059 г H = 4,7%; 3) 0,1761 г вещества дают, по Кьельдалю, 0,0473 г NH_3, соответственно 0,0389 г N = 22,08%.

Величины анализа для препаратов кристаллизации II позволяют вывести формулу



$$C_5H_6N_2O_2.$$

	Рассчитано,%	Найдено,%
C	47,62	47,70
H	4,76	4,70
N	22,22	22,08

Препараты от трех других кристаллизаций отличаются от этого пре-

парата только тем, что они на каждые 12—14 молекул содержат 1 молекулу H_2O.

Состав этих препаратов, следовательно, таков:



$$12(C_5H_6N_2O_2)+H_2O.$$

	Рассчитано, %	Найдено, %
C	47,05	46,89
H	4,82	4,59
N	21,96	21,98

Упоминаемое в записях Мишера соединение, названное нуклеозином, не является основанием, поскольку, как это явствует из способа его получения, оно не осаждается фосфорновольфрамовой кислотой.

Нуклеозин прекрасно возгоняется в токе плавления и растворяется в 270 частях воды при 18°. Он кристаллизуется в форме образующих сноповидные структуры неправильных ромбических длинных пластинок и призм. Пока еще трудно судить, идентичен ли нуклеозин тимину, формула которого, установленная недавно Косселем и Нейманом[13],— $C_5H_6N_2O_2$ — совпадает с таковой для нуклеозина.

Другой характерный продукт расщепления нуклеиновой кислоты был получен следующим способом. Был использован старый, хранившийся несколько лет под спиртом препарат нуклеиновой кислоты; 18,23 г воздушно-сухого препарата нагревали с 283 мл воды в автоклаве в течение трех дней при 120—124°. В потемневшей жидкости обнаруживался коричневый осадок, который после промывания водой, спиртом и эфиром весил 2,7 г и который не растворялся ни в щелочных растворах (NH_4OH, $NaOH$), ни в соляной кислоте. Это вещество подвергали кипячению с разбавленной в 3 раза концентрированной соляной кислотой с обратным холодильником в течение 3 дней. Остается черная, напоминающая уголь, поддающаяся растиранию масса, количество которой после промывания водой, спиртом и эфиром составляет 0,61 г и которая частично растворима в щелочи. Другую часть материала получали путем упаривания коричневой, содержащей соляную кислоту жидкости и промывных вод и сухой остаток также кипятили в течение трех дней с соляной кислотой. Это «углистое вещество» совершенно не содержит фосфора. После высушивания в «сушильном жуке» вещество использовали для определения C, H и N. Приводимая ниже формула может рассматриваться лишь как приближенная, дающая некоторое представление о составе этого продукта расщепления нуклеиновой кислоты, который постоянно появляется при нагревании последней с кислотами и, следовательно, не может не попасть в сферу нашего внимания:



$$C_9H_8N_2O_3.$$

	Рассчитано, %	Найдено, %
C	56,25	45,97
H	4,16	3,98
N	14,58	14,24

[13] Ber. deutsch. chem. Ges., 1894, Bd. 27, S. 2218.

Такой состав продукта свидетельствует по крайней мере о том, что мы имеем дело не с неопределенным материалом гуминовой природы, а с поддающимся довольно точной характеристике, богатым азотом соединением.

Изложенные выше исследования в области протамина и сальмонуклеиновой кислоты составляют основу для последующих, чрезвычайно важных и исключительно результативных работ по изучению цельной спермы лосося.

III. О КОЛИЧЕСТВЕННОМ СОСТАВЕ МОЛОК ЛОСОСЯ [5*]

1. О СТРУКТУРЕ СПЕРМАТОЗОИДОВ

В этом отношении я почти ничего принципиального не могу добавить к тем данным, которые я получил еще 20 лет назад (1874 г.) [14]. Описанный тогда процесс дифференцировки головки на толстую оболочку и иначе устроенное содержимое мне удалось еще лучше и точнее, чем с помощью ранее применявшихся, зачастую оказывавшихся недостаточно совершенными методов, доказать путем окрашивания генцианвиолетом осмиевых препаратов и окрашивания метилгрюном нефиксированных объектов. Применение указанных реактивов позволило выявить, что внутренняя часть головки резче прокрашивается, чем ее оболочка. Если обработать белоснежную сперму, полученную от живого лосося, жидкостью, которая содержит 1% уксусной кислоты, 9—10% глауберовой соли и довольно большое количество метилгрюна, то в микроскопе Цейсса с апохроматором 1 мм и окуляром 12 удается наблюдать великолепное зеленое окрашивание внутренней части головки, в то время как оболочка не окрашена совсем или окрашена очень слабо. Тот факт, что после обработки сперматозоидов лосося соляной кислотой оболочка головки приобретает способность прокрашиваться обычными ядерными красителями, как это показал Захариас, не может служить убедительным аргументом в пользу тех гистологов, которые избирательное отношение названными выше и другими красителями без каких-либо оговорок привыкли считать как прямые и точные доказательства присутствия нуклеиновых кислот; ведь известно, что многие окрашенные препараты выдерживают обработку соляной кислотой до истощения [6*].

И центральную нить, обнаруженную в 1874 г., я совершенно отчетливо смог наблюдать на этих же препаратах, а именно так же, как и всю структуру, будь то при рассмотрении поверхности или же в продольном и поперечном срезах; эта нить выглядит как продолжение хвоста в головку, причем не только по направлению нити, но и по ее гистохимическим свойствам. Зачастую на сухих препаратах удается наблюдать, что внутреннее содержимое головки в форме своего рода коагулята собирается вокруг центральной нити.

Более сильные оптические системы с бо́льшим угловым отверстием

[14] Die Spermatozoen einiger Wirbelthiere, a.a.O.

непригодны для наблюдения структур с такими исключительно сильно преломляющими свет и линзообразными, искривленными поверхностями, как это имеет место в случае головок сперматозоидов; наилучшие результаты я получил, применяя адисперсионный апохромат Цейсса с апертурой 4 мм при использовании подходящих окуляров.

Меньше внимания я уделил строению хвоста, который представляет собой крайне неблагодарный объект для тонкого гистохимического анализа из-за исключительно нежной и неустойчивой структуры. Вода мгновенно разрушает его. Лучше всего даже по сравнению с физиологическим раствором поваренной соли хвосты сохраняются в растворе глауберовой соли с плотностью 1,020. Наблюдая такие структуры в течение некоторого времени, я отметил тенденцию к распадению их на множество нитей. Какой-либо отличающийся по своему отношению к красителям центральный участок мне ни разу не удалось заметить, несмотря на большое число разнообразных экспериментов. И гистохимическое поведение не дает никаких указаний на существование какой-то структуры, встроенной между головкой и хвостом и существенно отличающейся от этих образований.

Описанное мной ранее весьма характерное, студенистое набухание головок в растворах поваренной соли наступает уже в пределах концентрации от 1 до 5% NaCl. В этом процессе принимает участие как оболочка, так и внутреннее содержимое головки. При работе с совсем свежими объектами часто удается заметить внутри более устойчивое образование, соответствующее центральной нити.

2. ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗОЛИРОВАНИЕ

Если сперму из Vas deferens живого или только что убитого половозрелого лосося сейчас же после выделения отцентрифугировать, то отделяется прозрачная, имеющая щелочную реакцию жидкость, которая наряду с очень малыми количествами белка содержит иногда следы нуклеиновокислых солей, а также хлористый калий и фосфорнокислые и углекислые соли щелочных металлов. Однако если материал перед центрифугированием в течение нескольких часов находился в холодильнике, то надосадочная жидкость несколько мутнеет, это объясняется разрушением хвостов даже в том случае, если к содержимому Vas deferens ничего не добавляли.

Если совсем свежую сперму смешать с упомянутым выше раствором глауберовой соли плотностью 1,02 и немедленно отцентрифугировать, то можно практически полностью отделить сперматозоиды от компонентов жидкости. При повторном центрифугировании после обработки дистиллированной водой получают жидкость сильно мутную из-за присутствия набухших хвостов, продолжая добавление воды и центрифугирование, причем при возможно более низких температурах можно в конце концов добиться получения прозрачной жидкости и белого как снег осадка, собирающегося в виде плотного порошка. После 6—10 центрифугирований не появляется никакого помутнения при добавлении к пробам жидкости ферроцианида калия и уксусной кислоты или же фосфорновольфрамовой

кислоты; микроскопическое исследование показывает, что осадок состоит из абсолютно чистых и аккуратно изолированных головок сперматозоидов. Таким способом можно собрать чистые головки в количестве нескольких граммов, сохраняя их под спиртом, в виде тяжелого белоснежного порошка, напоминающего неорганический материал, например сульфат бария или оксалат кальция.

3. СОСТАВ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ ЖИДКОСТИ

Взятая 3 декабря 1892 г. у живого лосося молока, имеет жидкую консистенцию, гомогенна, очень белая, с легким красноватым оттенком. После немедленного центрифугирования была получена совершенно прозрачная, бесцветная, светлая как вода сильнощелочная жидкость, объем которой составлял 21 мл. Несколько захваченных при сливании клеток спермы легко были удалены фильтрованием через фильтровальную бумагу наивысшей чистоты. Совершенно прозрачный фильтр не содержит каких-либо форменных телец. При добавлении ферроцианида калия к слегка подкисленной уксусной кислотой жидкости наблюдается только очень слабая опалесценция; лишь спустя 24 ч выпадает в осадок несколько мелких хлопьев, после удаления которых в фильтрате не обнаруживается вообще никакого помутнения при добавлении фосфорновольфрамовой и серной кислот. Отсюда следует, что жидкость спермы содержит лишь следы белка, но не содержит пептона и каких-либо оснований, она свободна от железа, щелочноземельных металлов и фосфорной кислоты, если не принимать во внимание вызывающие сомнение следы этих веществ. Жидкость сохраняет полную прозрачность после добавления соляной кислоты, а также соляной кислоты и двух объемов спирта, что свидетельствует об отсутствии нуклеиновой кислоты.

9,7258 г жидкости после упаривания и высушивания на воздушной бане дают 0,0756 г остатка, что соответствует 0,78%. При озолении остается 0,0629 г золы, которая дает 0,0885 г $AgCl = 0{,}0219$ г Cl, 0,0118 г $BaSO_4 = 0{,}0050$ г H_2SO_4 и 0,0418 г калийплатинахлорида = 0,0067 г K.

На 100 частей золы приходится (%)

NaCl	51,0
KCl	8,2
K_2SO_4	14,0
Na_2CO_3	26,8
	100,0

В самой жидкости находится 0,13% органических веществ и 0,65% неорганических солей.

Молоки от другого, также живого, лосося имели тот же вид и были отцентрифугированы в тот же день, как и в случае молок первого лосося. Надосадочная жидкость, количество которой составляло 15 мл, была такой же прозрачной и светлой, как вода, что у первого лосося, и в этом

случае в жидкости не обнаружено каких-либо компонентов, кроме следов белка и серной кислоты.

4,3382 г жидкости дают сухой остаток 0,0409 г = 0,94%. При сжигании остатка получено 0,0327 г золы, которая содержит 0,0034 г K, 0,0127 г Na и 0,0009 г H_2SO_4, остальное состоит только из Cl и CO_2.

Зола, следовательно, имеет такой состав: $NaCl+Na_2CO_3$ 79,6%; KCl 15,6%; K_2SO_4 4,8%.

В жидкости находится 0,19% органических веществ и 0,75% неорганических солей.

Принимая во внимание такой состав жидкости, можно совершенно не сомневаться в том, что эта часть спермы должна выполнять определенную роль, а именно служить, подобно физиологическому раствору поваренной соли, для того, чтобы придавать сперматозоидам необходимую при опустошении семенников подвижность; это не сопровождается какими-либо повреждениями, что достигается благодаря изотопическим свойствам жидкости.

4. СОСТАВНЫЕ ЧАСТИ ХВОСТОВ СПЕРМАТОЗОИДОВ

Из первых порций жидкости, полученных вышеописанным способом путем обработки сперматозоидов водой и центрифугирования, удается полностью осадить вещества, образующие ткани хвоста, лучше всего для этой цели применять избыток ацетата аммония с последующим добавлением нескольких капель соляной кислоты. Одна кислота вызывает лишь помутнение. Образующийся обильный беловатый осадок под микроскопом имеет вид однородных аморфных глыбок, без каких-либо признаков присутствия гетерогенных жироподобных частиц, кое-где видны еще отдельные малочисленные головки. После осаждения уксусной кислотой этот исходно так легко набухающий в воде материал становится уже совершенно нерастворимым в уксусной кислоте или соляной кислоте в концентрациях 0,1—0,2%. Фильтрат от указанного осадка не дает помутнения с ферроцианидом калия, а также и с фосфорновольфрамовой кислотой.

При последующей обработке компонентов хвостов теплым спиртом в экстракт переходит очень большое количество веществ. Получаемый после медленного упаривания при невысокой температуре остаток по своей консистенции частично походит на мазь, а частично — на растительное масло и легко растворяется в небольшом количестве эфира с образованием прозрачного раствора, если не считать нескольких крошек, которые оказались легко растворимыми в воде солями. Ничто не указывает на присутствие веществ группы церебринов, большинство которых трудно растворяется в эфире, а в воде только набухает.

Проэкстрагированный спиртом и эфиром остаток состоит из белка. Для приготовления того остатка, который послужил в качестве препарата для определения количественного состава указанного белка, была использована сперма лососей, выловленных в ноябре и декабре, свободная от тканей семенников. Сперму в растворе 7%-ной глауберовой соли тщательно отделяли посредством центрифугирования и затем в соответствии

с описанным выше методом обрабатывали водой. Водянистую надосадочную жидкость осаждали ацетатом аммония в присутствии небольшого количества соляной кислоты и полученное вещество, которое хранили перед дальнейшей переработкой в спирте и которое приобретало при этом желтоватую окраску, затем 4 раза извлекали смесью спирта и эфира без нагревания. В четвертой вытяжке обнаруживались заметные следы остатка.

Промытое таким образом спиртом и эфиром вещество затем многократно обрабатывается большими объемами воды, после чего обезвоживается спиртом и промывается эфиром. Сушка производится при 80—90° в токе водорода. Элементный анализ, при котором N определяли волюметрией, а S — по методу Кариуса, давал следующие результаты (%):

C	51,85	N	14,89 и 14,99
H	7,10	S	1,37

Эти величины полностью соответствуют полученным для других белков, и не может быть никаких сомнений в том, что исследуемое вещество состоит только из белка. В процессе описанной выше обработки сперматозоидов этот белок переходит в растворенном состоянии в воду, но не выпадает в осадок просто при добавке кислоты. Лишь после внесения ацетата аммония в подкисленной соляной или уксусной кислотой жидкости появляется осадок, который при нагревании до кипения свертывается. Этот коагулят плохо растворяется в калийной щелочи даже при нагревании. Набухшие кусочки, равно как и растворенная часть, дают биуретовую реакцию.

Объединенные спиртовые и эфирные вытяжки медленно отгоняли при 40° и остаток опять растворяли в горячем спирте. Две порции этого раствора служили для установления количества сухого вещества в экстракте, а третья — для определения фосфора с целью выяснения содержания лецитина.

Общее количество взятого для описанной экстракции и сушки белка составляло 0,8528 г, сухое вещество соответствующего спиртово-эфирного экстракта — 1,1825 г. Сумма обоих — 2,0353 г сухого осадка. Во всем эфирном экстракте найдено 0,0573 г P_2O_5, что соответствует 0,6480 г олеиновой кислоты — лецитина.

Таким образом, в состав спиртово-эфирного экстракта входит 54,80% лецитина и 45,20% жира.

Состав осадка, получаемого после осаждения ацетатом аммония и соляной кислотой водянистой жидкости, отделяющейся после центрифугирования головки, и состоящего из основных компонентов хвостов сперматозоидов, согласно приведенным анализам, может быть представлен так (%): белки — 41,90; лецитин — 31,83; жиры, холестерин — 26,27.

Жиры состоят из жирных кислот, которые обнаруживаются в виде мыл в надосадочной, водянистой, сильнощелочной жидкости.

Мы исследовали также состав эфирного экстракта из целых сперматозоидов.

В случае образца спермы от ноября 1891 г. сперматозоиды отделяли

в центрифуге непосредственно от промежуточной жидкости без добавления глауберовой соли, осадок экстрагировали сначала 6 раз большими объемами теплого спирта, затем промывали эфиром и наконец настаивали с теплым спиртом в течение нескольких часов при помешивании. Полученный после экстракции белоснежный, меловидный остаток составил 7,10 г, общее количество растворимой в эфире части спиртово-эфирного экстракта — 1,0386 г. Высушенное на воздухе вещество может считаться сухим, поскольку оно ранее было обезвожено теплым спиртом. Исходная порция сперматозоидов, вес которых можно принять за 7,10+ +1,0386=8,1386 г, содержит, таким образом, в расчете на сухой вес 12,76% веществ эфирного экстракта. Последний высушивали в вакууме, при этом он окрашивался в темно-коричневый цвет, что, вероятно, связано с разложением лецитина. Высушенный материал лишь частично растворялся в эфире.

1) 0,3520 г высушенного эфирного экстракта дают 0,0245 г $Mg_2P_2O_7$ = =0,0157 P_2O_5, что соответствует 0,1774 г олеиновой кислоты лецитина = = 50,40%; 2) 0,3346 г экстракта дают после омыления раствором едкого калия 0,0452 г холестерина = 13,50%.

Объединенный спиртово-эфирный экстракт содержал лишь около 0,006 г растворимых в спирте, но, напротив, нерастворимых в эфире и воде веществ, что указывает на присутствие церебрина.

Образец спермы Б от ноября 1881 г. центрифугировали с 9—10%-ным раствором глауберовой соли. Однако при этом надосадочная жидкость содержала отделившиеся хвосты, сперматозоиды также не были вполне интактными. Как и сперматозоиды спермы А, они хорошо извлекались спиртом и эфиром.

Растворимая в эфире доля экстракта весит 0,6790 г, экстрагированный и затем промытый холодной водой остаток составляет 4,9 г в расчете на сухой вес и соответствует примерно 5,71 г не обработанного водой материала. Эти сперматозоиды содержат, таким образом, 10,6% веществ, переходящих в эфирный экстракт.

0,3610 г сухого эфирного экстракта дают после омыления 0,0540 г холестерина = 14,96%.

Состав эфирного экстракта из целых сперматозоидов, очевидно, таков (%): 50,4 — лецитин; 14,23 — холестерин и 35,37 — жиры.

В связи с малым количеством материала не было возможности выяснить, не содержит ли принимаемое за холестерин вещество еще и цетиловый спирт. Церебрин в экстракте, по-видимому, отсутствует. Бросается в глаза большое содержание в хвостах лецитина. Они, по-видимому, близки по своему составу серому веществу мозга. В одном из писем, адресованных автором В. Гису, говорится: «Чем подробнее я знакомлюсь с хвостами сперматозоидов, тем очевиднее для меня становится, что они, по существу, представляют собой химический тип организации безмякотных нервов, т. е. осевых цилиндров».

5. СОСТАВ ГОЛОВОК СПЕРМАТОЗОИДОВ

Способ изолирования головок путем обработки сперматозоидов водой описан выше (с. 146, 147). Следует только добавить, что для этих исследований была использована зрелая сперма, полученная от середины ноября до середины декабря. Сперму выдавливали из Vas deferens живых или незадолго до этого убитых лососей. Предварительное центрифугирование сперматозоидов с 9—10%-ным раствором глауберовой соли для решения поставленной задачи не является необходимым и поэтому в большинстве случаев не проводилось. Обработку водой вели до тех пор, пока надосадочная жидкость не становилась совершенно прозрачной, и ни ферроцианид калия, ни фосфорновольфрамовая кислота даже после 24-часового стояния не вызывали помутнения. Освобожденные таким образом от хвостов головки сначала экстрагировали 600—700 мл спирта при 60—70° в течение нескольких часов, а затем осадок хорошо промывали эфиром на бунзенском фильтре. Такую процедуру обычно повторяли 6 раз. При выпаривании последней спиртово-эфирной промывной воды остаются лишь следы твердого остатка.

Спирт и эфир перегоняли непосредственно перед употреблением, а применявшиеся фильтры предварительно тщательно промывали горячим спиртом так, чтобы исключить возможность загрязнения спиртово-эфирных экстрактов.

Проэкстрагированные спиртом и эфиром головки, представляющие собой белоснежную массу, освобождаются от спирта и эфира путем легкого подогревания, одна порция материала высушивается в воздушной бане или в вакууме с легким нагреванием до постоянного веса, а основная масса материала сохраняется в закрытых сосудах в воздушно-сухом состоянии для определения протамина и фосфора. Головки изолировали из разных партий спермы и затем подвергали исследованию.

1. Головки Hh. Из спермы очень зрелых семенников лосося от ноября 1890 г.
2. Головки Ji + Aa + Bb. Из трех порций спермы, полученных из выделений и семенников от ноября и декабря 1890 г.
3. Головки «2—5 декабря 1891 г.» Из спермы, выдавленной из Vas deferens.
4. Головки Ll. Выделения спермы от 26 ноября 1891 г.
5. Головки I. Сперма от 1892 г.
6. Головки II. Сперма от 1893 г.
7. Головки III. Сперма, переработанная весной 1891 г.

Изучение спиртово-эфирных экстрактов проводили таким образом, что чисто отфильтрованная или отцентрифугированная жидкость медленно упаривалась, и остаток доводили на воздушной бане до постоянного веса. В двух случаях определяли содержание фосфора, на основании которого, как и при исследовании хвостов, рассчитывали количество лецитина. Следует отметить, что желтоватые маслянистые экстрактивные массы обладали своеобразным колющим, раздражающим глаза и нос, напоминающим горчицу запахом, неидентичным с акролеином.

1. Головки Hh. На 31,83 г обезжиренных и освобожденных от лецитина головок при расчете на сухой вес содержится всего 0,3500 г эфирного экстракта, т. е. 1,10%.

2. Головки Ji + Aa + Bb. Общее количество эфирного экстракта, соответствующего 20,0686 г сухих чистых головок, составляет 0,2700 г, т. е. 1,33%. Определение P дало для всего экстракта 0,0048 г P_2O_5, что позволяет рассчитать содержание лецитина 0,0542 г = 20,07% экстракта.

3. Головки «2—5 декабря». Из 3,9829 г сухих головок получено 0,1020 г экстракта, т. е. 2,56%.

4. Головки II. Общее количество спиртово-эфирного экстракта, полученного из 10,1368 г сухих головок, составляет 0,0755 г = 0,74%, этот экстракт содержит 0,0028 г P_2O_5, что соответствует 0,0316 г лецитина, количество которого составляет 11,8% всего экстракта.

5. Головки III. На 10,3032 г головок найдено 0,1240 г спиртово-эфирного экстракта = 1,23%.

Таким образом, на 100 частей экстрагированных спиртом и эфиром безводных головок найдено (%):

	1	2	3	4	5
Спиртово-эфирного экстракта	1,10	1,33	2,56	0,74	1,23

Отметим, что в противоположность хвостам, которые богаты растворимыми в спиртово-эфирной смеси веществами, в чистых изолированных головках количество этих веществ очень невелико. Этот факт служит веским доказательством того, что весь спиртово-эфирный экстракт спермы лосося, за исключением ничтожных количеств жирных кислот, может быть получен из хвостов. В одном случае при сжигании спиртово-эфирного экстракта головок с содой и селитрой не было обнаружено фосфорной кислоты, а, следовательно, в экстракте отсутствовал лецитин.

Отсюда явствует, что лецитин находится только в хвостах. Высказанное в 1874 г. утверждение [15], что хвост сперматозоида вообще не содержит фосфора, теперь, очевидно, следует сформулировать в том смысле, что хвост не содержит фосфора в форме нуклеиновой кислоты, а имеющийся фосфор принадлежит лецитину.

Определение протамина проводили путем экстрагирования обезжиренных и освобожденных от лецитина головок 0,25%- и 0,5%-ной соляной кислотой при низких температурах с последующим осаждением протамина хлоридом платины. Осадок протаминплатинахлорида собирали на фильтре, промывали, высушивали и взвешивали. В фильтрате от платинового осадка не остается обнаруживаемых количеств протамина и вообще отсутствуют какие-либо органические основания. Детали метода выделения приводятся ниже. Головки заливали в ступке разбавленной соляной кислотой и тщательно размешивали и растирали. Ступку охлаждали, и температура массы не поднималась выше 3—4°. Затем смесь переносили в центрифужные стаканы и помещали их до и после центри-

---

[15] Die Spermatozoen einiger Wirbelthiere, a.a.O., S. 185 u. 188.

фугирования в лед. Экстракцию проводили три раза: сначала со 150 мл 0,5%-ной соляной кислоты, а последние два раза, как правило, 0,25%-ной кислотой, причем обычно в том же объеме, а иногда в несколько уменьшенном объеме, чем при первой экстракции. Надосадочная жидкость после центрифугирования третьего экстракта либо оставалась совершенно прозрачной после добавления ферроцианида калия или фосфорновольфрамовой кислоты, либо давала легкую опалесценцию.

В большинстве случаев центрифугирование проводили в течение короткого времени: приблизительно $^1/_4$ ч, чтобы избежать разрушения головок. Затем полученную при этом надосадочную жидкость еще раз центрифугировали в течение часа, причем отделяли небольшой осадок, а жидкость становилась совершенно прозрачной. На первых порах определение протамина было неудачным в связи с тем, что головки приобретали вязкую, резиноподобную консистенцию, и невозможно было достичь полноты извлечения. Указанное затруднение удалось однако преодолеть, применив растирание массы в находящихся во льду центрифужных стаканах при помощи толстой заостренной книзу стеклянной палочки.

Суммированные ниже определения протамина могли быть проведены без каких-либо потерь раствора или вещества. Для расчетов количества протамина была предложена основная формула $C_{16}H_{28}N_9O_2$, 2HCl, $PtCl_2$+ +$1^1/_2H_2O$. Найденное весовое количество двойной платиновой соли, умноженное на 0,464, дает количество протамина. Исходные воздушно-сухие головки рассчитаны на сухой вес.

Определение протамина

	Вещество (головки), г	Протаминплатинахлорид, г	Рассчитано протамина, г	Протамин, %	% платины в протаминплатинахлориде	Обозначение препарата
1.	1,7485	0,7037	0,3265	18,67	23,69	Hh
2.	2,1882	0,8761	0,4065	18,57	23,95	Hh
3.	1,8675	0,8089	0,3753	20,09	23,91	Ji + Aa + Bb
4.	2,1724	0,9387	0,4355	20,05	24,05	Ji + Aa + Bb
5.	0,6074	0,2675	0,1241	20,43	—	«2—5 дек. 1891 г.»
6.	0,6470	0,2834	0,1315	20,32	24,04	«2—5 дек. 1891 г.»
7.	1,0563	0,4597	0,2133	20,19	24,11	Ll
8.	1,0583	0,4556	0,2114	19,97	24,16	Ll
В среднем		—	—	19,78	23,98	

Результаты этих определений будут обсуждаться в дальнейшем. Мы же обратим наше внимание на второй главный компонент головок — нуклеиновую кислоту, и в частности в первую очередь на содержание фосфора как составной части этого соединения.

Приводимые ниже результаты анализов фосфора как в просто обезжиренных головках, так и в предварительно обработанных соляной кислотой для определения протамина должны были прежде всего составить основу для решения вопроса о том, принадлежит ли весь фосфор головок нуклеиновой кислоте. На деле это оказалось именно так, что и будет показано в дальнейшем изложении.

Исходя из этого, можно на основании содержания фосфора сделать прямое заключение о количестве нуклеиновой кислоты, находящейся в головках, и, кроме того, судить и о количестве других составных частей. Анализ фосфора в головках проводили, как описано выше, при анализе нуклеиновой кислоты.

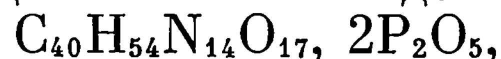
В головках, проэкстрагированных только *спиртом* и *эфиром* и высушенных до постоянного веса в вакууме при 70° или на воздушной бане при 100°, были найдены следующие количества фосфора, выраженные в виде P_2O_5:

1. Головки Hh: 0,6608 г вещества дают 0,1417 г $Mg_2P_2O_7$ соответственно 0,0906 г $P_2O_5 = 13{,}71\%$.
2. Головки Hh: 0,6290 г вещества дают 0,1347 г $Mg_2P_2O_7$, соответственно 0,0861 г $P_2O_5 = 13{,}68\%$.
3. Головки Hh: 0,4962 г вещества дают 0,1027 г $Mg_2P_2O_7$, соответственно 0,0657 г $P_2O_5 = 13{,}24\%$.
4. Головки «2—5 декабря»: 0,5574 г вещества дают 0,1136 г $Mg_2P_2O_7$, соответственно 0,0727 г $P_2O_5 = 13{,}04\%$.
5. Головки «2—5 декабря»: 0,4990 г вещества дают 0,1044 г $Mg_2P_2O_7$, соответственно 0,0668 г $P_2O_5 = 13{,}38\%$.

При анализе сухих освобожденных от жира и лецитина головок было также получено (в %):

	1	2	3	4	5	Среднее
P_2O_5	13,71	13,68	13,24	13,04	13,38	13,41

Если принять, что в таких освобожденных от лецитина головках весь фосфор находится в форме нуклеиновой кислоты и если для расчета количества последней руководствоваться найденной выше формулой



$$C_{40}H_{54}N_{14}O_{17},\ 2P_2O_5,$$

согласно которой в молекуле должно содержаться 22,08% P_2O_5, то окажется, что количество *нуклеиновой кислоты в головках составляет* 60,73%. Сюда надо прибавить 19,78% протамина и тогда, очевидно, будет установлена природа почти 81% компонентов головки при том условии, что допущение о содержании фосфора соответствует действительности.

Однако следовало задать себе вопрос: *что, кроме протамина, переходит в кислотную вытяжку?* Для того чтобы решить этот вопрос, фильтраты, получаемые после отделения протаминплатинахлорида, освобождались от платины путем пропускания сероводорода и многократного упаривания на водяной бане. Сгущенные прозрачные желтоватые жидкости не дают осадка с хлоридом платины даже при добавлении спирта и, следовательно, могут считаться свободными от протамина. Фосфорновольфрамовая кислота, аммиачный раствор серебра и реактив Несслера также не вызывают ни помутнения, ни окрашивания, что указывает на отсутствие щелочноземельных металлов. Прямыми реакциями удается обнаружить только кальций, но не другие металлы щелочноземельной группы, а также в довольно существенных количествах серную кислоту.

Сначала определяли сухой остаток, который иногда из-за присутствия хлористого кальция, несмотря на нагревание в воздушной бане, не отдавал полностью воду, затем массу сжигали и прокаливали и в золе определяли кальций и фосфорную кислоту. Обнаруживаемую в форме гипса серную кислоту можно не принимать во внимание, если учесть, что в отдельных случаях сперму промывали перед изолированием головок глауберовой солью.

В расчете на обезжиренные, использованные для выделения протамина головки было найдено следующее процентное содержание:

	Hh	Ji	«2-5 декабря»	Ll	Среднее
Сухой остаток	2,44	1,80	2,24	3,65	2,53
Остаток после прокаливания	1,83	1,26	1,83	1,56	1,62

Таким образом, было сожжено и улетучилось, включая влагу хлористого кальция, 0,9% материала головок.

При расчете данных анализа золы на 100 частей головок получено (%):

	Hh	Hh	Hh	Ji + Aa	Ji + Aa	«2-5 декабря»	Ll	Среднее
Ca	0,32	0,22	0,28	0,17	—	0,14	—	0,23
P_2O_5	0,05	—	—	0,05	0,06	0,03	0,07	0,05

Остаток золы состоял, по-видимому, из гипса. Калий и натрий в расчет не принимались, поскольку они выщелачиваются еще в процессе получения головок. Даже в том случае, если 0,05% фосфорной кислоты находятся в головках не в виде фосфата, а в форме нуклеиновой кислоты, то и тогда количество последней не должно составлять намного больше чем 0,2% головок или 0,3% всей нуклеиновой кислоты. Таким образом, одновременно с протамином из головок извлекается 0,5%-ной соляной кислотой только 2—3% других составных частей.

Мы исследовали также кислотные вытяжки спермы, использованной для получения нуклеиновой кислоты (с. 132). Осаждение протамина, удаление избытка платины сероводородом проводили, как указано выше.

После добавления аммиака к сгущенной, свободной от платины жидкости появлялся осадок, состоящий из фосфорных солей щелочноземельных металлов; 40,36 г сухой спермы дают в такой форме 0,0116 г P_2O_5 = =0,03%.

Фильтрат от фосфатов составляет после сгущения и высушивания 0,4056 г = 1% остатка в форме гигроскопической массы (хлористый кальций).

Обработанные таким же образом третья и четвертая вытяжки оставляли в сумме 0,1290 г = 0,32% остатка. Однако, в то время как две первые освобожденные от протамина и избытка платины вытяжки оставались совершенно прозрачными при добавлении аммиачного раствора серебра,

в третьей и четвертой вытяжках при этом появлялся осадок соединения серебра, вес которого составлял 0,210 г. Мы не проверяли, содержит ли этот осадок ксантиновые тела или подобные им вещества. Количество их, во всяком случае, не превышает 0,2% спермы. Если принять, что количество кальция в этих четырех вытяжках, вместе составляющих 1,23% остатка, выражается так же, как и в экстрактах головок, — величиной 0,23% (при расчете на сперму) и что 0,03% этого количества образуют соединение с фосфорной кислотой, то тогда очевидно, что сперма в целом отдает в солянокислые экстракты, кроме протамина (%):

Кальций	0,20	В осадке серебра	0,20
Фосфат кальция	0,09	Другие вещества	0,74

Даже при столь энергичной экстракции спермы соляной кислотой, когда в экстракт переходят продукты, образующиеся за счет распада нуклеиновой кислоты и осаждаемые аммиачным раствором серебра, общее количество экстрагируемых веществ лишь незначительно превышает 1% в расчете на сухое свободное от жира и лецитина вещество спермы. Поскольку последнее перед экстракцией спиртом и эфиром обрабатывалось водой (см. с. 131), то можно считать данные этого анализа в основном совпадающими с результатами анализа головок.

Факт, что при обработке изолированных головок разбавленной соляной кислотой наряду с протамином извлекается лишь малое количество других органических и неорганических веществ, полностью подтверждается путем расчета количеств этих веществ, включая протамин, на основании данных о содержании фосфора в обезжиренных головках, с одной стороны, и в остатке после экстракции соляной кислотой — с другой.

После извлечения соляной кислотой головки сперматозоидов тщательно промывали сначала водой, а затем спиртом. Сушку проводили на воздушной бане или в токе воздуха при 70—75°, фосфор определяли, как указано выше. Результаты приведены ниже:

	Mg_2	P_2O_7, г	P_2O_5, г	P_2O_5, %	Головки
1.	0,2295	0,0617	0,0394	17,16	«2—5 декабря»
2.	0,3595	0,0980	0,0626	17,41	»
3.	0,3646	0,0972	0,0621	17,03	L1
4.	0,5146	0,1420	0,0908	17,63	I и II
В среднем		—	—	17,30	

Исходные головки, подвергнутые только обезжириванию, в среднем содержат 13,41% P_2O_5, из которых 0,05% переходят в солянокислую вытяжку (см. с. 154). Из этих цифр можно рассчитать, что количество остатка после обработки соляной кислотой должно составлять по отношению к 13,41% (17,30+0,05)=77,28%. Таким образом, в экстракт переходит 22,72% материала, из которого 19,78% приходятся на протамин и 2,94% — на другие вещества. О природе последних позволяют сделать заключение результаты приведенных выше опытов (с. 154, 155). В этих опытах было найдено 2,53% веществ, переходящих вместе с протамином в солянокислую вытяжку, при расчете — 2,94%. Результаты анализов совпадают вполне удовлетворительно.

Допустив, что основная масса фосфора в головках находится в форме нуклеиновой кислоты, мы рассчитали количество нуклеиновой кислоты в головках, которое выражается величиной 60,73% (см. с. 154). Если те 0,05% P_2O_5, которые переходят в солянокислый экстракт, происходят не из нуклеиновой кислоты, указанное количество должно быть уменьшено до 60,5%.

Учитывая результаты этих предварительных экспериментов, мы сформулировали следующее представление о составе головок (%):

Нуклеиновая кислота	60,50
Протамин, извлекаемый, HCl	19,78
Другие вещества, извлекаемые HCl	2,94
Остаток неизвестной природы	16,78

В наших дальнейших опытах мы прежде всего попытались разрешить вопрос о том, какое количество содержащегося в сперме фосфора можно получить непосредственно в форме нуклеиновой кислоты после удаления лецитина.

Для этих определений нуклеиновой кислоты использовали порцию спермы, которая была проэкстрагирована спиртом и соляной кислотой при температуре, близкой к 0°, для приготовления препарата F_7 (см. с. 138).

Нуклеиновую кислоту изолировали согласно приведенной выше методике, но принимали особые предосторожности для предотвращения каких-либо потерь за счет разбрызгивания и разложения. Раствор едкого натра, как и все остальные растворы, перед добавлением хорошо охлаждали в снегу. Температура содержащих нуклеиновую кислоту щелочных фильтратов никогда не превышала 2,5°. Последние фильтраты получали не позднее чем через 4—4,5 ч после добавления щелочи. Перед осаждением нуклеиновой кислоты соляной кислотой и спиртом все жидкости еще раз охлаждали; центрифугирование выпавшей в осадок нуклеиновой кислоты также проводили при низкой температуре. К фильтратам нуклеиновой кислоты добавляли аммиак и хлористый барий и затем спирт с целью осадить следовые количества нуклеиновой кислоты в форме бариевых соединений; такую же процедуру проводили при осаждении щелочных промывных вод, полученных спустя более чем 4 ч после начала фильтрования, но в этом случае фильтраты предварительно насыщались соляной кислотой. В полученных таким путем из фильтратов бариевых соединениях, так же как в нуклеиновой кислоте, оставшейся на фильтре, определяли содержание фосфорной кислоты. В этом эксперименте был исключительно высокий выход нуклеиновой кислоты.

Анализы дали следующие результаты: 0,5857 г экстрагированной только спиртом и доведенной до постоянного веса спермы дали 0,1095 г $Mg_2P_2O_7$=0,07 г P_2O_5=11,95%. 0,4525 г экстрагированной соляной кислотой высушенной спермы дали 0,1151 г $Mg_2P_2O_7$ = 0,0736 г P_2O_5 = 16,26%. 11,076 г экстрагированной соляной кислотой влажной спермы, соответственно 4,2693 г сухого материала дают в форме изолированной нуклеиновой кислоты 0,6361 г P_2O_5; в осадке нуклеиновой кислоты, полученном

из фильтратов путем осаждения хлористым барием, найдено 0,0232 г P_2O_5; всего в форме нуклеиновой кислоты найдено 0,6593 г P_2O_5=15,44% сухой проэкстрагированной соляной кислотой спермы.

Таким образом, от всего количества фосфора, найденного в обработанной соляной кислотой сперме в среднем 95% P=(15,44÷16,26)×100 приходятся на долю нуклеиновой кислоты. Как показали результаты приведенных ниже экспериментов, и остальные 5% фосфора, несомненно, входят в состав молекулы нуклеиновой кислоты.

Для таких экспериментов сперму «от порции спермы III» 4—5 раз очень тщательно обрабатывали при перемешивании большими количествами спирта при 60—70° и экстракт отделяли фильтрованием на бунзеновском фильтре. Затем осадок на фильтре промывали и 6 раз обрабатывали при 4—8° C 0,5-ной соляной кислотой. В шестой кислотной вытяжке при добавлении ацетата натрия и ферроцианида калия наблюдалось лишь слабое помутнение. Промытый спиртом остаток содержал лишь ничтожные следы соляной кислоты. Получение нуклеиновой кислоты проводили при низкой температуре с теми же предосторожностями, как и в предыдущих опытах.

1) 0,6858 г высушенной свободной от лецитина спермы дают 0,1270 г $Mg_2P_2O_7$ = 0,0812 г P_2O_5 = 11,84%; 2) 0,4884 экстрагированной соляной кислотой сухой спермы дают 0,1265 г $Mg_2P_2O_7$ = 0,0809 г P_2O_5 =16,56%; 3) 6,5150 экстрагированного соляной кислотой сырого материала, соответственно 2,4105 г сухого дают 1,6380 г сухой нуклеиновой кислоты; 4) 0,3340 г этой нуклеиновой кислоты дают 0,1086 $Mg_2P_2O_7$, соответственно 0,0694 г P_2O_5 = 20,77%; 5) Из фильтратов этой нуклеиновой кислоты и из промывных вод от 2,4105 г спермы вышеуказанным способом (с. 156) путем осаждения NH_3 и $BaCl_2$ получено 0,0199 г P_2O_5.

Из 2,4105 г экстрагированной соляной кислотой спермы согласно этим анализам получено P_2O_5 (непосредственно измерено) 0,3992 г и P_2O_5 (как нуклеиновая кислота) 0,3601 г.

Отсюда следует, что (0,3601 : 0,3992)×100=90,2% всего фосфора найдено в нуклеиновой кислоте.

В фильтрате от нуклеиновой кислоты, где было проведено осаждение остаточных количеств последней аммиаком и хлористым барием, после упаривания и сжигания с содой и селитрой не найдено вообще следов фосфорной кислоты. Поэтому меньшее (по сравнению с другими опытами) содержание фосфора, а следовательно, и нуклеиновой кислоты связано, очевидно, с менеё полным растворением нуклеиновой кислоты в щелочном растворе.

На основании результатов этих определений и принимая во внимание изложенные выше факты о том, что лишь следы фосфорной кислоты в форме фосфатов переходят в солянокислый экстракт, можно с уверенностью утверждать, что вся масса фосфора, содержащегося в свободной от лецитина сперме, включая то ничтожно малое количество, которое обнаруживается в форме фосфата, содержится в форме нуклеиновой кислоты.

В сперме, проэкстрагированной только спиртом и предварительно про-

мытой водой для удаления слизи (с. 131), найдено, как это указано выше, 11,95 и 11,84% P_2O_5. В специальном эксперименте установлено, что 0,03% этого количества переходят в солянокислую вытяжку и, очевидно, не относятся к нуклеиновой кислоте. В изученном образце спермы содержание нуклеиновой кислоты в первом опыте составляло (11,92 : 22,08)×100=53,9%, а во втором (11,81 : 22,08)×100=53,4%. В другом опыте, где исходным материалом служили сперматозоиды, которые обрабатывали сначала раствором глауберовой соли, затем экстрагировали горячим спиртом и эфиром и наконец хорошо промывали большими объемами холодной воды и сушили на воздушной бане, у таких сперматозоидов, очевидно, полностью сохранивших после промывания водой свернувшийся белок хвостов, найдено 11,63% P_2O_5, что соответствует 52,7% нуклеиновой кислоты.

Из соотношения между содержанием фосфора в сперматозоидах в последнем опыте и данными, полученными ранее для изолированных головок (13,41%, см. с. 154), следует, что в среднем компоненты освобожденных от жира и лецитина сперматозоидов распределяются между головками и хвостами следующим образом: 87% — головки и 13% — хвосты.

О количестве эфирного экстракта из интактных сперматозоидов имеются данные лишь одного анализа (с. 150), согласно которому массу его составляет 12,76% массы всего сперматозоида. Поскольку жир и лецитин находятся почти исключительно в хвостах, то из имеющихся в нашем распоряжении данных можно рассчитать, что в исходных сперматозоидах, содержащих и жир, и лецитин, по крайней мере приблизительно находится 76% веществ головок и 24% веществ хвостов.

Изучение других компонентов спермы. После того как головки сперматозоидов обрабатываются описанным выше способом соляной кислотой, а затем разбавленным раствором едкого натра, сохраняется остаток неизвестного состава, составляющий около 16—17% массы головок (см. с. 156). На первых порах не удавалось точно выяснить природу этого остатка, несмотря на ряд проведенных анализов. О нуклеиновой кислоте не могло быть и речи, белок не удавалось обнаружить, что и неудивительно, если принять во внимание полноту извлечения протамина соляной кислотой. В связи с этим казалось оправданным предположение о наличии в головках какого-то своеобразного вещества, изолирование которого было проведено следующим образом. Хорошо проэкстрагированные 0,25—0,5%-ной соляной кислотой головки подвергались экстракции слабым раствором натриевой щелочи на холоду, как это описано для получения нуклеиновых кислот. Нерастворимый в щелочи остаток, количество которого невелико, сначала прозрачен и имеет желеобразную консистенцию, которая утрачивается после многократного промывания водой и центрифугирования. В конечном итоге получают плотный, нисколько не набухший светло-серый порошкообразный осадок, в то время как вначале мутные, а затем лишь опалесцирующие, содержащие нуклеиновую кислоту промывные воды становятся наконец прозрачными. Под микроскопом осадок после последнего центрифугирования имеет вид бледных комочков и конгломератов, среди которых встречаются более сильно преломляющие

свет зерна неправильной и неодинаковой формы. Некоторые из них имеют вид медузообразных оболочек, а другие — колоколов.

Даже самая легкая операция при наличии хвостов удается на изолированных головках лишь при исключительно благоприятных условиях, поскольку остатки спермы распадаются до таких мелких частиц, что разделение их на центрифуге становится невозможным. В этом случае набухание не удается устранить даже при продолжительном промывании водой и получаемые жидкости очень долго остаются мутными за счет тонкораспределенных частиц набухшего вещества. В большинстве случаев удается предотвратить такого рода эмульгирование материала добавлением 0,1—0,2%-ного ацетата аммония и 0,5—1% карбоната аммония с начала промывания.

В присутствии хвостов благодаря наличию в них большого количества белка не наблюдается сильное набухание и тонкое диспергирование вещества. Поэтому промывание идет легко, и смытые с фильтров остатки, получаемые в процессе изолирования нуклеиновой кислоты из спермы, могли быть отцентрифугированы в дистиллированной воде и точнее проанализированы. Материал имеет несколько студневидный характер, немного прозрачен, но после добавления нескольких капель уксусной кислоты становится крошковатым. В спиртово-эфирную смесь материал отдает лишь следы лецитина.

Анализ этого вещества, высушенного на воздушной бане, на фосфор и серу дал следующие результаты:

1) 0,8414 г дают 0,0064 г $Mg_2P_2O_7$, соответственно 0,0041 г $P_2O_5 = 0{,}48\%$; 2) 0,5300 г дают 0,0042 г $Mg_2P_2O_7$, соответственно 0,0027 г $P_2O_5 = 0{,}51\%$; 3) 0,8490 г дают 0,5780 г $BaSO_4$, соответственно 0,0793 г $S = 1{,}15\%$. 0,5%-ному содержанию фосфора в среднем отвечает 2,27% нуклеиновой кислоты. Значительное количество серы, хорошо согласующееся со столь же высоким содержанием ее в хвостах (с. 149), свидетельствует о том, что этот материал остатка, за исключением нескольких процентов, состоит из белков, происходивших, вероятно, из хвостов; эти белки относятся к той категории, которая дает биуретовую реакцию с медью лишь после кипячения со щелочами.

Между этим белком, не растворившимся при выделении нуклеиновой кислоты, и тем веществом из головок, которое было получено, как это ранее описано (с. 157), имеются существенные различия, о чем свидетельствуют данные анализа. Сушку проводили в «сушильном жуке» (см. с. 133).

1) 0,1113 г вещества дают 0,1651 г CO_2, соответственно 0,0450 г $C = 40{,}43\%$ и 0,0595 г H_2O соответственно 0,0066 г $H = 5{,}93\%$; 2) 0,1523 г вещества дают г 0,2234 CO_2, соответственно 0,0610 г $C = 40{,}05\%$ и 0,0733 г H_2O соответственно 0,0081 г $H = 5{,}31\%$; 3) 0,1024 г вещества дают при волюметрическом определении 19,06% N; 4) 0,1109 г вещества дают при волюметрическом определении 19,07% N; 5) 0,0539 г вещества дают 0,0072 г $P_2O_5 = 13{,}35\%$.

Таким образом, в среднем найдено (%):

C	40,24	N	19,06
H	5,62	P_2O_5	13,35

Эти величины прежде всего показывают, что вещество еще содержит 60% нуклеиновой кислоты и, кроме того, какое-то богатое азотом соединение. По поводу природы последнего в записях автора имеется ряд высказываний. Он склоняется к мысли о том, что в головках существует особое вещество, располагающееся во внутреннем пространстве, которое он называет кариогеном и которому он, исходя из содержания азота, отводит положение между белком и ксантиновыми телами [7*]. «При обработке реактивом Миллона описанное вещество, свежеприготовленное и иногда совершенно белое, давало со щелочным раствором меди лишь слабое красное или фиолетовое окрашивание и, таким образом, не может рассматриваться как белок. В других случаях наблюдались более четкие реакции, а иногда даже достаточно сильно выраженные. До сего времени остается еще сомнительным, связана ли биуретовая реакция действительно с присутствием кариогена. Я располагаю многими осадками, которые в растворе хлористого натрия прекрасно набухают, но не дают реакции с миллоновым реактивом, дают очень слабую биуретовую реакцию даже при нагревании, а у одного препарата биуретовая реакция вообще не проявлялась» [8*].

Природа этого вещества так и осталась бы невыясненной и мы не вышли бы из круга одних лишь предположений, если бы не был проведен ряд элементных анализов проэкстрагированных соляной кислотой головок, данные которых позволили четко сформулировать представления об общем составе головок. Элементный анализ таких продуктов, какие представляют собой головки сперматозоидов после извлечения их соляной кислотой, может иметь значение только для выбора направления дальнейших исследований. Однако в этом смысле анализ поразительным образом дает совершенно прямое заключение о составе вызывающего сомнение вещества и вместе с тем позволяет выразить состав головок сперматозоидов с помощью химической формулы.

Остаток после экстракции головок соляной кислотой (см. с. 151, 152) промывали с помешиванием большими объемами спирта для удаления HCl, затем высушивали в токе сухого воздуха в «сушильном жуке». Несмотря на это, вещество содержит немного хлористого водорода, обычно лишь следы

а) Головки LI (ср. с. 151): 1) 0,02192 г вещества дают 0,3210 г CO_2, соответственно 0,0875 г C = 39,92% и 0,0975 г H_2O, соответственно 0,0108 г H = 4,92%; 2) 0,2259 г вещества дают 0,3301 г CO_2, соответственно 0,0900 г C = 39,84% и 0,1013 г H_2O, соответственно 0,0112 г H = 4,95%; 3) 0,3131 г вещества дают по Кьельдалю 0,0736 г NH_3, соответственно 0,0606 г N = 19,35%; 4) 0,1975 г вещества дают 0,0459 г NH_3, соответственно 0,0378 г N = 19,13%.

б) Головки I и II в смеси (ср. с. 151): 5) 0,2394 г вещества дают 0,3497 г CO_2, соответственно 0,0954 г C = 39,85% и 0,1035 г H_2O, соот-

ветственно 0,0115 г H = 4,80%; 6) 0,2677 г вещества дают 0,3906 г CO_2, соответственно 0,1065 г C = 39,78% и 0,1156 г H_2O, соответственно 0,0128 г H = 4,78%; 7) 0,2362 г вещества дают при волюметрическом определении 18,82% N; 8) 0,2094 г вещества дают, по Кьельдалю, 0,0466 г NH_3, соответственно 0,0384 г N = 18,34%; 9) 0,2206 г вещества дают 0,0494 г NH_3, соответственно 0,0407 г N = 18,44%.

в) Головки, маленькая порция. 10) 0,2322 г вещества дают, по Кьельдалю, 0,0532 г NH_3, соответственно 0,0438 г N = 18,86%; 11) 0,3322 г вещества дают 0,0757 г NH_3, соответственно 0,0623 г N = 18,75%.

Состав головок, следовательно, таков (%):

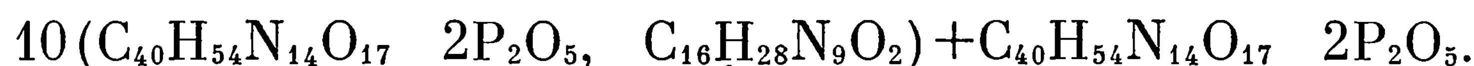
	Ll	Ll	I и II	I и II	I и II	М.п.	М.п.	Среднее
C	39,92	39,84	39,85	39,78	—	—	—	39,85
H	4,92	4,95	4,80	4,78	—	—	—	4,86
N	19,35	19,13	18,82	19,34	18,44	18,86	18,75	18,81

М,п—маленькая порция.

Эти головки содержали в среднем 17,3% P_2O_5 (см. с. 156), что соответствует 78,35% нуклеиновой кислоты. В 78,35 частях нуклеиновой кислоты содержатся 29,24 C, 3,28 H и 11,94 N. Если вычесть это количество от найденных процентных величин, то остается остаток в количестве 21,65 частях свободного от нуклеиновой кислоты вещества, где найдено 10,61 C, 1,58 H и 6,87 N; это составляет при расчете на 100 частей: C — 49,00; H — 7,29; N — 31,73.

Приведенный состав должен быть, таким образом, отнесен к исследуемому богатому азотом веществу. Это вещество содержит 8,88 атома N на 16 атомов C. Если при рассмотрении данных анализа головок отбросить минимальные величины содержания N 18,34 и 18,44%, которые, вероятно, объясняются ошибками эксперимента, то содержание N можно принять за 18,98%, и тогда оказывается, что в этом веществе на 16 атомов C приходится точно 9 атомов N, как в протамине. Поэтому факт идентичности последнего неизвестного остатка головок с протамином не вызывает сомнений. Дальнейшие расчеты показывают, что в этих экстрагированных соляной кислотой головках сперматозоидов, вероятно, имеются ничтожные количества других веществ, которые состоят из 11 молекул нуклеиновой кислоты и 10 молекул протамина; это означает, что на 10 молекул нуклеиновокислого протамина приходится 1 молекула просто свободной нуклеиновой кислоты. Вещество, вероятно, не совсем свободно от белка, однако его количество может быть крайне небольшим, поскольку найденные величины поразительно хорошо совпадают с расчетными, как это следует из приведенной ниже таблицы.

Элементный состав головок сперматозоидов после извлечения разбавленной соляной кислотой может быть выражен следующей формулой:



$$10(C_{40}H_{54}N_{14}O_{17}\ 2P_2O_5,\ C_{16}H_{28}N_9O_2) + C_{40}H_{54}N_{14}O_{17}\ 2P_2O_5.$$

Кислый нуклеиновокислый протамин Свободная нуклеиновая кислота

	Рассчитано, %	Найдено, %
C	40,16	39,85
H	4,87	4,86
N	19,05	18,81
P_2O_5	17,42	17,30

Нейтральный или слегка нуклеиновокислый протамин, свежеосажденный из раствора нуклеиновокислого натрия солянокислым протамином, легко растворяется даже в разбавленных щелочных растворах. Поэтому должно было вызывать удивление то обстоятельство, что при такой же обработке головок, состоящих практически целиком из нуклеиновокислого протамина, в них сохраняется хотя и незначительное, но все же достаточно большое количество нерастворенного материала. Наличие такого растворимого в разбавленных щелочных растворах остатка позволило предположить существование специфической ядерной субстанции.

Приведенные выше данные автора о поведении этой субстанции при выделении нуклеиновой кислоты и в особенности результаты анализов послужили указанием в пользу образования какого-то продукта превращения или расщепления столь лабильной нуклеиновой кислоты. Некоторые реакции, которые я провел с различными препаратами нуклеиновой кислоты, полученными самим автором, полностью подтвердили такую возможность [9*]. Нуклеиновая кислота растворяется в щелочах с образованием совершенно прозрачной жидкости. При добавлении избытка уксусной кислоты появляется лишь опалесцирующая муть, но не происходит осаждения нуклеиновой кислоты, как это заметил еще в своих первых экспериментах автор. Нагревание жидкости в течение некоторого времени на водяной бане сопровождается постепенным образованием осадка, который иногда пристает ко дну стакана. Это вещество более не растворяется в разбавленных щелочных растворах и переходит в раствор только под воздействием довольно больших концентраций щелочи. Если полученные таким путем растворы разбавить водой, то появляется сильная молочная муть. После длительного стояния часть исключительно мелко распределенного материала осаждается на дно стакана, хотя мутность жидкости при этом заметно и не уменьшается. Точно так же ведут себя, по данным автора, жидкости, содержащие указанное вещество (см. с. 160). Поскольку в данном случае количество вещества было невелико, то наблюдалась скорее опалесценция, чем молочная муть. При центрифугировании не происходит осаждения. Лишь при добавлении 0,20—0,25%-ного раствора ацетата аммония и небольшого количества карбоната аммония удавалось, как правило, добиться выпадения осадка, поскольку вещество нерастворимо в аммиаке, а сильные щелочи даже в разбавленном растворе вызывают пусть и небольшое, но все же растворение материала и тем самым его эмульгирование.

Этот продукт превращения нуклеиновой кислоты может возникать именно в период хранения проэкстрагированных соляной кислотой головок. Нуклеиновокислый протамин, который был получен путем осаждения

из слабокислых растворов, а затем высушен при 60—70°, полностью уже не растворяется в щелочных растворах. Но, как подчеркивает автор, количество этого продукта очень невелико. Для оценки результатов элементного анализа головок, проэкстрагированных соляной кислотой, это последующее незначительное по масштабу превращение нуклеиновой кислоты может не приниматься в расчет в особенности потому, что возникающие продукты превращения по количественному соотношению не отличаются от такового в исходном веществе.

Таким образом, полученные данные не оставляют никаких сомнений в том, что головки, экстрагированные соляной кислотой, содержат за вычетом лишь незначительных примесей органических и неорганических веществ нуклеиновую кислоту и протамин, что выражается соответствующей приведенной выше формулой. Головки, следовательно, состоят на 78,92% из нуклеиновой кислоты и на 21,08% из протамина. Экстрагированные соляной кислотой головки составляли 77,28% исходных, просто обезжиренных головок. При расчете на это количество, которое мы примем за 100 частей обезжиренных головок, получаем для последних 21,08×0,7728=16,29% протамина, оставшегося в головках после извлечения соляной кислотой. Если прибавить к этому непосредственно найденные количества протаминплатинахлоридов, т. е. 19,78%, то тогда окажется, что в обезжиренных головках содержится всего 36,07% протамина.

Количество нуклеиновой кислоты в них составляет 60,50% (см. с. 156) и для образования соли с двумя молекулами протамина требуется 35,56 частей последнего на 100 частей головок. Отсюда требуется 35,56% протамина, найдено 36,07% протамина.

Согласно указанным данным, после извлечения спиртом и эфиром головки содержат 35,56% протамина, 60,50% нуклеиновой кислоты или 96,06% нейтрального нуклеиновокислого протамина.

Из числа компонентов, которые составляют остальной 1% материала, 2,5% переходят в солянокислую вытяжку (см. с. 155). Здесь обнаруживается и серная кислота, а поскольку в головках содержится кальций, то должен обнаруживаться и гипс, от которого, очевидно, и происходит сера, найденная при сжигании материала с содой и селитрой в количестве 0,04%, что соответствует 0,14% гипса. В экстрагированных соляной кислотой использованных для элементного анализа головках I и II найдено 0,117% серы и 0,12% железа, которое сохраняется в остатке после изолирования нуклеиновой кислоты. Учитывая форму, в которой анализировался остаток (см. с. 167), следует отнести его к железосодержащим веществам.

Результат анализов, свидетельствующий о том, что обезжиренные головки состоят на 96% из нуклеинового протамина, следует считать поистине поразительным. Поскольку эта соль не может находиться в форме организованной структуры, то можно вообще сомневаться в существовании каких-либо структурных образований в головках. Мы не можем допустить, что белковые вещества головок удаляются из них одновременно с удалением хвостов, поскольку микроскопическая картина

при наблюдении головок до и после изолирования остается без изменений. Путем обработки эозином удается показать, что в случае удачно проведенной процедуры изолирования головок в препаратах нет даже следов хвостов, срединной пластинки или каких-либо иных образований белковой природы, в то время как внутреннее пространство головки под действием указанного реактива (с. 145) четко выявляется и хорошо отграничивается. Безусловно, что оно по своему строению отличается от оболочки, хотя и состоит из тех же веществ. Причина указанных различий, по-видимому, заключается в том, что нуклеиновая кислота и протамин распределены в головках неравномерно в виде нейтральной соли, так что на поверхности располагается основная, внутри — кислая соль нуклеиновой кислоты и протамина. В пользу такого предположения свидетельствует упомянутый выше факт (с. 145) появления поглощения красителя ядерного вещества оболочкой после экстрагирования головок соляной кислотой. Щелочная реакция оболочки доказывается ее голубым окрашиванием обесцвеченным раствором цианина, внутреннее пространство при этом не прокрашивается [16].

Даже если головки сперматозоидов содержат что-то специфическое, будь то биологическая структура или вещества ферментной природы, то количество их по отношению ко всей массе головки может быть лишь исключительно малым. Очевидно, что назначением нуклеиновокислого протамина в этом случае является прежде всего создание своего рода оболочки вокруг этого специального устройства для того, чтобы защитить его от всех опасностей, в первую очередь от воздействия воды во время метания икры. Материал для этого исключительно хорошо приспособлен, прочен и устойчив в интактной структуре головки и вместе с тем легко разнимается на части и может быть пригоден для дальнейшей утилизации, после того как он выполнил свое основное назначение.

6. НЕКОТОРЫЕ СООБРАЖЕНИЯ О НЕЗРЕЛОЙ, РАЗВИВАЮЩЕЙСЯ СПЕРМЕ

Исследования по этому вопросу только успели начаться, как были прерваны внезапной болезнью автора. В этом разделе работы трудности были еще более велики, чем при изучении зрелой спермы.

В этом случае мы оказываемся перед фактами, которые абсолютно не можем объяснить с позиций уже известных понятий. Существенным результатом химической части этой работы является разработка отличного метода для полного и надежного изолирования ядер из клеток семенников; этот метод может быть применен при работе с другими тканями. Автор придавал данному методу ключевое значение в подходе к разнообразным объектам исследования, надеясь получить многие ценные данные.

Незрелую сперму отбирали у лососей в сентябре, причем у только что убитых животных. В первой половине месяца семенник имеет малую величину, составляя обычно от 0,8 до 1,5% веса тела, довольно полно-

[16] Vgl. *Miescher*. Die Spermatozoen einiger Wirbelthiere, a.a.O., S. 142.

кровен, окрашен в серо-красноватый цвет и имеет мягкую, студневидную просвечивающую консистенцию. В клетках имеется по 2, 4, 6 и более ядер; отсутствуют сперматобласты и зрелые сперматозоиды. Но и в этот период встречаются экземпляры животных, у которых семенники достигают до 4% веса тела и содержат уже готовые сперматозоиды.

Во второй половине сентября вес семенников уже достигает 2—6% веса тела; они становятся беднее кровью, приобретают светло-серую окраску, мягки, но уже не так просвечивающе-студенисты, как на более ранней стадии развития. Клетки имеют различную величину, некоторые содержат лишь одно ядро, другие многоядерны, а в некоторых можно обнаружить даже 50 ядер и более: всегда присутствуют сперматобласты и готовые сперматозоиды. Количество последних обычно бывает очень велико, а к концу месяца из Vas deferens может даже вытекать уже готовая сперма.

Для изолирования ядер отбирались семенники, которые не содержали или же содержали лишь отдельные зрелые сперматозоиды. Методика заключается в обработке материала семенников раствором кристаллической желчи или натриевой или кальциевой солью таурохолевой кислоты. Уже сама по себе желчь растворяет протоплазму, вызывает сильное побледнение ядер и выщелачивает их. Напротив, раствор, содержащий 0,25—0,3% кристаллической желчи и 0,8—1% хлористого кальция, полностью растворяет протоплазму, не затрагивая при этом ядра. При меньшей концентрации хлористого кальция, например при 0,25—0,5%, компоненты ядра переходят в жидкость. Для микроскопических исследований пользовались раствором глауберовой соли 1 : 10, который содержал желчь и хлористый кальций. В принципе при изолировании ядер органы (в данном случае семенники) заливают указанным раствором. После этого они при незначительном механическом усилии (раздавливании и растирании) превращаются в похожую на молоко эмульсию, в которой плавают беловатые обрывки; при рассмотрении в микроскоп видны плотно прилегающие друг к другу ядра. Молочного вида жидкость сначала освобождают от слизи, а затем центрифугируют. При этом жир всплывает, подобно сливкам, наверх, в то время как ядра, которые несколько сжимаются и начинают сильно преломлять свет, образуют массивный белый осадок. Если желчь и хлористый кальций применяются в правильной концентрации и при соответствующих условиях, то надосадочная жидкость прозрачна и лишь окрашена в кроваво-красный цвет. В противном случае жидкость замутнена жиром и частицами ядер. Эта жидкость содержит компоненты протоплазмы и может быть использована для их изучения.

Осадок ядер еще раз размешивают с раствором желчи и хлористого кальция, центрифугируют и таким же образом промывают водой. Промывные воды сначала довольно сильно опалесцируют, но не содержат взвешенных частиц. Путем повторного центрифугирования взмученного осадка, однако, удается в конечном итоге добиться полностью прозрачных надосадочных жидкостей. В этих промывных водах обнаруживаются только мыла и, по-видимому, следы нуклеиновой кислоты. Осадок представляет собой группы из 2, 4 или более ядер, которые совершенно изо-

лированы друг от друга и не склеены никаким связующим средством. Однако выделение больших масс этого материала удается, в особенности при работе с не совсем свежими органами, значительно труднее, чем получение материала в количествах, необходимых для микроскопирования. В поверхностных слоях осадка, на ядрах, особенно на маленьких, отмечено присутствие аморфной массы, пронизанной небольшим числом маленьких, сильно преломляющих свет зернышек, которая состоит, по-видимому, из набухшей, выделившейся из ядер нуклеиновой кислоты. Для дальнейшего исследования осадок либо непосредственно извлекали соляной кислотой, либо хорошо промывали спиртом и эфиром и сохраняли.

В применявшейся для растворения протоплазмы жидкости, содержавшей желчь и хлористый кальций, после центрифугирования были найдены жирные кислоты в форме мыл и обычно немного нуклеиновой кислоты. Чем свежее орган, тем меньше количество последней. В одном случае нуклеиновая кислота вообще не была обнаружена. Это обстоятельство, а также факт появления нуклеиновой кислоты в непостоянных количествах, свидетельствуют о локализации нуклеиновой кислоты не в протоплазме, а в ядре.

Изолированные таким путем ядра извлекали 0,25%-ной соляной кислотой. После фильтрования жидкость прозрачная как вода и не мутнеет ни при нейтрализации, ни при кипячении. После добавления сульфата аммония или поваренной соли до насыщения образуется просвечивающий хлопьевидный осадок, который еще более обилен в жидкости, не подвергавшейся нейтрализации. Протамин в результате добавления этих солей оседает в виде капель, пристающих к стенке стакана. Ферроцианид калия вызывает хлопьевидное помутнение, а со щелочным раствором меди можно получить отличную красную биуретовую реакцию. При подщелачивании жидкости появляется легкая муть, избыток щелочи способствует выпадению осадка, однако полнота осаждения не достигается. После удаления извести ацетатом аммония и оксалатом аммония в нейтрализованной жидкости при добавлении еще отчетливо кислого раствора нуклеина в аммиаке выпадает обильный, плотный, хлопьевидный осадок, который растворим в избытке аммиака. Сулема вызывает в исходном солянокислом растворе выпадение большого белого хлопьевидного осадка, который в отличие от гистона не растворяется в избытке осаждающего средства. Фосфорновольфрамовая кислота и двойная соль йодистого калия и йодной ртути способствуют выпадению лишь небольшого осадка.

Платиново-синеродистый калий, напротив, дает очень большой хороший хлопьевидный белый осадок, который при избытке осадителя прекрасно оседает на дно. Промывание осадка начинают со взмучивания с водой, содержащей платиново-синеродистый калий и соляную кислоту, а затем промывают осадок уже на фильтре водой и наконец, спиртом и эфиром. Протамин с платиново-синеродистым калием образует осадок в виде капель. Но в данном случае исследуемое вещество, которое не является протамином, ведет себя при всех реакциях, как пропептон или альбуминоза. Это вещество происходит из ядер, а не из упоминавшейся выше, как правило, еще остающейся приставшей к ядрам промежуточной

субстанции. Последняя нисколько не изменялась в результате воздействия 0,25%-ной соляной кислотой. Ядра же, напротив, быстро и в значительной степени сморщивались, так что промежуточная субстанция становилась незаметной. При этом ядра не становились более компактными в соответствии со степенью сморщивания и, напротив, наблюдалось разделение на основное вещество и вакуоли или, точнее, на толстую мембрану с разнообразными неравномерными выпячиваниями внутрь и наряду с этим совершенно пустое светлое пространство. Таким образом, можно считать несомненным, что вещество, осаждаемое платиново-синеродистым калием, происходит из внутренних областей ядра.

Это соединение синеродистой платины было высушено в токе водорода и проанализировано.

1) 0,2058 г вещества дают 0,3266 г CO_2, соответственно 0,0891 г C = =43,29% и 0,1106 г H_2O, соответственно 0,0123 г H=5,97%; 2) 0,2004 г вещества дают 0,3161 г CO_2, соответственно 0,0862 г C = 43,01% и 0,1098 г H_2O, соответственно 0,0122 г H = 6,08%; 3) 0,2689 г вещества дают по Виллю и Babbентраппу 0,0586 г NH_3, соответственно 0,0482 г N = 17,92%; 4) 0,3076 г вещества дают по тому же методу 0,0666 г NH_3, соответственно 0,0548 г N = 17,81%. Волюметрическое определение «без поправки» дало 18,99% N; 5) 0,2044 г вещества дают 0,0303 г Pt=14,82%. Если вычесть от найденных средних процентных величин процентное содержание платины и соответствующих ему необходимых для образования двойных солей цианида с 2(HCN) и 2(CN) количеств C, H и N, а именно 14,82% Pt, 3,64% C, 0,15% H и 4,25% N, то остаток составит 77,14% платинового соединения. Рассчитав остающиеся количества C, H, N и O на 100 частей этого соединения, получим цифры, которые лучше всего соответствуют найденным при анализе состава альбуминозы, полученной Кюне и Читтенденом[17] из миозина и названной дейтеромиозинозой. Данные анализов представлены ниже (%):

	C	H	N	O
Альбуминоза из ядер	54,21	7,60	17,64	23,44
Дейтеромиозиноза из мышечной ткани	50,97	7,42	17,00	23,39

Все растворимые альбуминозы другого происхождения содержат обычно больше C и меньше N. Такое совпадение процентного состава обеих альбуминоз никак не может быть простой случайностью. Оно служит указанием на одинаковое происхождение, что является еще одним звеном в цепи доказательств, свидетельствующих об использовании в качестве строительного материала веществ мышц тела в процессе образования спермы.

Мы провели только определения P и N в ядрах, тщательно проэкстрагированных соляной кислотой и большими объемами горячего спирта, а затем промытых эфиром. Было найдено 9,53% P_2O_5 и 15,35% N. Содер-

---

[17] Zeitschrift f. Biologie, 1889, Bd. XXV, S. 366.

жанию P_2O_5 соответствует 43,2% нуклеиновой кислоты. В кислотной вытяжке вообще отсутствует протамин. Однако не исключено, что он мог остаться в ядрах, если бы они содержали вообще только одну молекулу основания на одну молекулу нуклеиновой кислоты, поскольку полученные со сперматозоидами результаты показали, что протамин из кислой соли лишь в ничтожном количестве переходит в 0,25—0,50%-ную соляную кислоту; в нашем случае к тому же экстрагирование проводилось с более слабой кислотой, а именно с 0,25%-ной. Однако против наличия в ядрах протамина свидетельствует малое содержание N в ядрах, которое должно было бы составлять не 15,35%, а 17,5% в том случае, если бы в ядрах имелось 12,6% протамина, необходимых для нейтрализации нуклеиновой кислоты, а остаток ядер, т. е. 44,2%, состоял из белка. Разумеется, это только ориентировочные расчеты, поскольку разрозненные аналитические данные не могут составить основы для надежных выводов. В связи с этим остается совершенно неясным, какие вещества содержатся в ядрах, кроме нуклеиновой кислоты и ядерной альбуминозы. Вместе с тем нельзя исключить существование в ядрах специфического соединения — кариогена, каким его представлял себе и автор, или же какого-либо предшественника нуклеиновой кислоты. Во всяком случае, следует признать ядро местом образования веществ, из которых построена головка сперматозоида и которые в отличие от ядер и сперматобластов, характеризующихся разнообразием количественных соотношений компонентов, непостоянством формы и величины, «подобно монете, отчеканены точно и надежно, с постоянной формой и размерами» [10*].

В качестве возможного предположения можно принять, что альбуминозы ядра являются предшественником протамина. Обоим соединениям свойственна биуретовая реакция. Однако в то время как протамин не дает окрашивания с реактивом Миллона, альбуминозы эту реакцию дают. Очевидно, что при расщеплении основания не образуется ни тирозина, ни лейцина. Эти аминокислоты, вероятно, отщепляются в процессе превращения альбуминозы в протамин. При этом остается еще остаток, который содержит приблизительно в три раза больше H, в два раза больше O, чем C, и, вероятно, удаляется путем одновременного отщепления и окисления.

Следует, вероятно, допустить, что при образовании спермы белок сначала разделяется на две половины и что из одной получается затем протамин, в то время как другая используется для синтеза нуклеиновой кислоты. На основании своих подробных исследований о количественном составе органов и крови многих лососей автор пришел к выводу, что требуемая для образования нуклеиновой кислоты фосфорная кислота поступает в форме лецитина, который затем накапливается в хвостах зрелых сперматозоидов (см. с. 150) также в качестве запасного материала.

Для образования спермы необходимы большие количества белка. Поскольку протамин, а за вычетом фосфорной кислоты и нуклеиновая кислота намного богаче азотом, чем белковые вещества, то очевидно, что в обмене веществ лосося, не принимающего в период пребывания в Рейне никакой пищи, должна соблюдаться строгая экономия азота. Поэтому

животное в основном должно обеспечивать свое питание за счет веществ, не нужных для синтеза спермы, а именно излишних продуктов расщепления мышечных белков, а также жиров и углеводов. Какая высокая степень бережливости достигается в использовании таких веществ для жизнедеятельности, может быть проиллюстрировано таким поразительным фактом, что гликоген не полностью исчезает даже у страшно исхудавшего за время нереста лосося, у которого все части тела редуцированы. К сожалению, нет надежды на то, что весь собранный Мишером материал, включающий наблюдения, замеры веса и химические исследования состояния веществ в отдельных органах тела и в крови в различные периоды, начиная с формирования спермы и икринок и кончая их созреванием, удастся использовать в полном объеме для количественной характеристики осуществляющихся при этом процессов. В этом смысле нам, вероятно, придется ограничиться теми данными, которые сообщил в свое время сам Мишер [18].

Подводя в конце еще раз краткие итоги изложенным выше классическим сериям экспериментов, мы можем признать, что поставленная автором исходная задача «разложить клетки сперматозоида на основные компоненты, подобно тому как это произведено с минералами» (см. с. 124), почти полностью была разрешена. При этом он не только открыл до той поры совершенно неизвестную область биохимии, но и сделал ее одной из наиболее хорошо изученных. Ему, правда, не удалось заняться разрешением вопроса о строении нуклеиновой кислоты и протамина, но эти сведения могли бы иметь лишь очень условный характер, поскольку еще не установлено строение белковых веществ [11*]. Однако именно благодаря представленным здесь и более ранним работам Мишера и была создана прочная основа для решения в будущем важнейших задач биохимии. Я испытываю чувство грустного удовлетворения в связи с тем, что мне выпала задача способствовать созданию памятника выдающейся научной деятельности моего незабвенного друга, построенного из тех блоков, которые он с таким мучительным трудом собирал и в строго научном стиле аккуратно обтачивал.

НАБЛЮДЕНИЯ МИШЕРА О МОРФОЛОГИЧЕСКОМ РАЗВИТИИ СПЕРМАТОЗОИДОВ ЛОСОСЯ. ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ [12*]

Письма Мишера, касающиеся вопроса об образовании сперматозоидов, можно отнести к двум довольно большим сериям исследований: первая охватывает осень 1876 г. [13*], вторая — осень 1892 г. В оба рабочих сезона было сделано много оригинальных зарисовок, но, кроме того, Мишер почти каждый год возобновлял соответствующие исследования в сентябре и октябре. Наряду с рисунками от 1876 и 1892 гг. имеются также рисунки, которые были сделаны в 1872, 1877, 1878 и 1879 гг.

В письме от 17 сентября 1876 г. [14*] Мишер впервые сделал обзор своих

[18] Statistische und Biologische Beiträge u. s. W., a.a.O.

данных о развитии семенников, причем он наметил три последовательные фазы, каждая из которых продолжалась примерно 4 нед. Мишер таким образом характеризовал эти фазы.

1. Семенник полнокровный и весьма богат внедряющимися лейкоцитами, которые содержат много жира и склонны к распаду. Химически семенник содержит лейкоцитарный нуклеин.

2. Число лейкоцитов значительно снижается, ткань обескровлена. Вместе с тем появляются многоядерные клетки семенников, протоплазма которых состоит главным образом из альбумината калия, сильно набухает в воде и становится плотной под воздействием 10%-ного раствора поваренной соли. Химически семенник теперь содержит спермануклеин (но не содержит протамина). Мишер описывает ядра клеток семенников как слабо преломляющие свет капли какого-то еще неизвестного вещества, заключенные в желудеобразную оболочку из нуклеоальбумина, в подписях к этим рисункам Мишер называет эти ядра медузоидными. В дальнейшем ядра растворяются и наблюдается появление безъядерных пузырьков, в протоплазме которых распределен нуклеин.

3. Семенник снова становится очень полнокровным, и теперь в нем обнаруживаются зачатки головок сперматозоидов. Сначала они малы и рудиментарны, возникают в особых, бледных неравномерных образованиях, имеющихся в это время в протоплазме.

В 1876 г. Мишер[15*] рассматривал эти три формы клеток, а именно лейкоциты, клетки семенников и сперматобласты, как морфологически независимые образования, определяя их роль следующим образом: лейкоциты поставляют сырой материал, клетки семенников выполняют функцию фабрики нуклеина, а сперматобласты являются собственно строителями, образующими из готового материала аппарат сперматозоида.

Впоследствии Мишер отказался от мысли о независимости сперматобластов от клеток семенников. В своем письме от 13 октября 1892 г.[16*] он пишет по этому поводу: «Не существуют специальные локусы развивающихся сперматозоидов, по отношению к которым клетки семенников выполняют лишь функцию источника освобождающегося при их распаде материала, резорбируемого этими локусами. Клетки семенников сами превращаются в сперматобласты. Ядра приобретают слабое светопреломление, наблюдаются картины распада на более мелкие зерна, причем всегда сохраняется тонкий поверхностный слой протоплазмы. Клетки при этом становятся лоскутовидными и имеют своеобразную четкую границу, отделяющую просветлившееся содержимое. Такой сперматобласт можно рассматривать как зрелый. Применяя обработку некоторыми, вообще совершенно безвредными растворами, например раствором глауберовой соли 1 : 20 или уксусной кислотой 1 : 1000, можно добиться отделения поверхностного слоя с его скелетообразными, направленными внутрь выростами и внутреннего материала клетки. Тем временем появляются головки сперматозоидов, причем именно в области поверхностного слоя, содержащих скелетные вещества выростов. Сперматозоиды имеют вид светящихся сильно преломляющих свет точек, которые вскоре вытягиваются и заостряются наподобие стрелы. Таким образом, морфологически

сперматозоиды возникают как творение и отпечаток оставшейся в клетке протоплазмы.» [...]

Мишер подчеркивает атипические соотношения размеров всех клеточных структур: можно обнаружить крупные клетки с мелкими ядрами, маленькие клетки с большими ядрами, сперматобласты, в которых образуется только одна головка, и такие, где образуется 20—40 головок. Образование головок происходит впячиванием оболочки протоплазмы внутрь в виде пуговчатых структур, напоминающих головки глистов с суженной шейкой, а затем эти структуры облекаются изнутри слоем протоплазмы. Впрочем, Мишер подчеркивает и в этом более позднем письме: «Между ядром и головкой сперматозоида не существует морфологической непрерывности. Ядро является всего лишь материалом, из которого образуются два компонента головки. Морфологическая непрерывность сохраняется только для той части протоплазмы, которая служит в качестве лаборатории для переработки и перепечатки ядерных веществ. Но даже эта протоплазма, включая всю ее массу, поверхностный слой и скелет, не может рассматриваться как морфологически единое образование, как целое, а только лишь как материал, распределяющийся на погонный метр поверхности, или что-то в этом роде. Размер и форма сперматобластов не имеют значения; важная роль принадлежит лишь протоплазме, способной в силу присущих ей внутренних свойств к процессу чеканки; я представляю себе эту протоплазму определенным образом организованной в отличие от материала ядра».

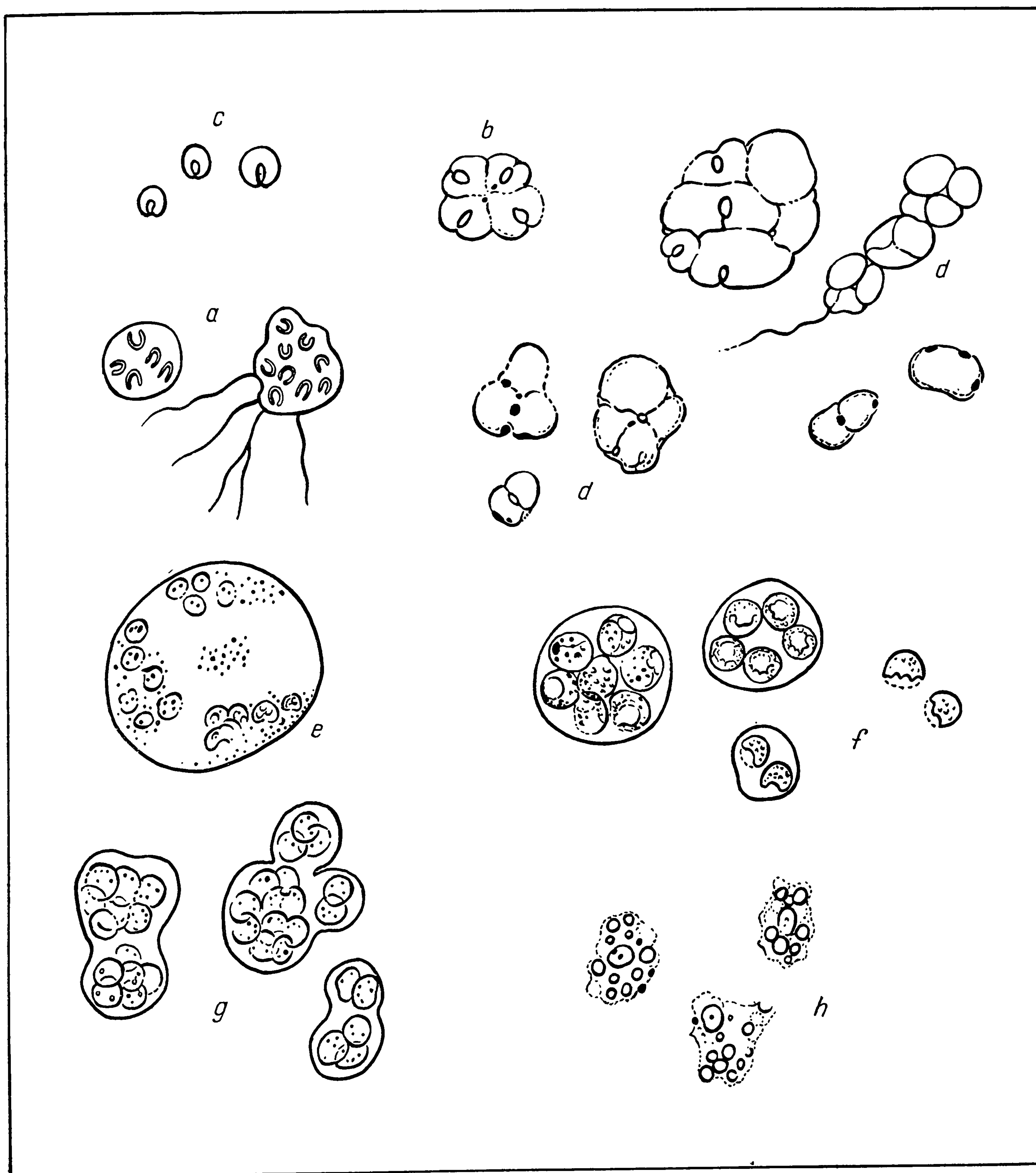
«Достаточно взглянуть на сперматобласты в различных стадиях созревания, чтобы понять как идет процесс использования их внутреннего содержимого. Чем больше величина головок и чем они ближе к зрелости, тем бледнее становится связывающая промежуточная субстанция и тем слабее она преломляет свет. Трудно даже точно указать момент, когда мы имеем дело уже не со зрелыми сперматобластами, а с кучей сперматозоидов».

Для этих различных по характеру утверждений в той степени, в какой они касаются морфологических наблюдений, оставленные Мишером рисунки предоставляют очень важные и нужные дополнения. Прежде всего они помогают понять, какой смысл вкладывал Мишер в термин «сперматобласт», который, как известно, имеет множество значений. Он называет сперматобластом не разветвленные образования, обнаруженные фон Эбнером, а структуры, из которых непосредственно возникают сперматозоиды (сперматиды в понимании Ла Валетты?).

Я приведу ниже несколько скопированных рисунков Мишера и укажу время, когда они были выполнены, поскольку это может быть немаловажным моментом при работе исследователей в будущем. (См. с. 173).

a. 1 октября 1876 г. Сперматобласты с почти готовыми сперматозоидами, слева без нитей, справа с несколькими выступающими из клетки нитями (йодная сыворотка, ализариновый препарат).

b. 30 сентября 1892 г. (анемичный семенник). Сперматобласты, от поверхностного слоя которых глистообразные головки выступают во внут-



реннее пространство. Сперматобласты разделены «скелетными балками» на отдельные отсеки (глауберова соль, 1 : 15).

c. 3 октября 1892 г. Самые маленькие по размеру сперматобласты, каждый содержит по одной прорастающей внутрь головке (глауберова соль, 1 : 10).

d. 30 сентября 1892 г. Препарат Б. Справа сперматобласты — как описано. В них видны уплотненный поверхностный слой и отходящие от него

внутрь «скелетные балки». Зачатки сперматозоидов обнаруживаются в поверхностном слое, в особенности в скелетных структурах в виде маленьких светящихся точек, которые там, где они сильнее наросли, выступают внутрь. У расположенного наверху справа сперматобласта нарисована нить, присутствие которой автор не объясняет (раствор глауберовой соли, 1 : 20).

d. Тот же препарат слева. Автор отмечает четкое разграничение поверхностного слоя и скелетной субстанции (глауберова соль, 1 : 20).

e. От 30 сентября 1892 г. Много гигантских клеток со «скоплениями растворяющихся ядер». Кое-где ядра еще сохраняют свою медузообразную форму, но уже набухли и слабо преломляют свет. В различных местах видны характерные, умеренно преломляющие свет зерна (соляная кислота, 1 : 1000).

f. До 20 сентября 1876 г. Клетки с «медузообразными ядрами». Справа несколько таких изолированных ядер. В ядрах обнаруживается открытое с одной стороны углубление. Подобные рисунки датированы 20 и 28 сентября. Клетки с медузообразными ядрами встречаются и в семенниках, которые содержат сперматобласты с многочисленными нитями.

g. 19 сентября 1878 г. Клетки семенников с многочисленными округленными ядрами; у некоторых клеток имеется перетяжка. Семенник гиперемичен, содержал и клетки с медузообразными ядрами, но мало сперматобластов.

h. 8 сентября 1876 г. Лейкоциты с многочисленными капельно-жирными включениями и бледной протоплазмой.

Как следует из вышеприведенных наблюдений, одновременно могут встречаться клетки семенников с многочисленными округленными или же медузообразными ядрами, и также сперматобласты в различных стадиях развития. Основной период, в течение которого происходит развитие сперматобластов, приходится на вторую половину сентября. Один и тот же семенник может, однако, в течение определенного времени содержать как полнокровные, так и анемичные участки, в гистологическом строении которых прослеживаются различия. Так, среди заметок Мишера к рисункам находится листок с записью по поводу семенника, наблюдавшегося 19 сентября 1878 г., где записано: «Анемичные участки: довольно большие миелоплаксы, по преимуществу медузоподобные ядра, почти нет сперматобластов. Полнокровные участки: почти нет очень крупных миелоплаксов, клетки в основном содержат 1—3 ядра, хотя имеется небольшое число клеток с 6—15 ядрами преимущественно в форме пузырьков и отмечаются и медузоподобные ядра. Небольшое количество маленьких бледных образований с первыми следами головок сперматозоидов, которые, очевидно, возникли из 1—3 ядерных клеток. Таким образом, сначала происходит подготовка к образованию спермы».

Было бы чрезвычайно желательным проведение дополнительных наблюдений сперматогенеза у лосося с помощью более новых гистологических методов, и мы глубоко благодарны нашему коллеге д-ру Метцнеру, который обещал заняться этим делом. Во всяком случае, уже теперь ясно, что в этой работе предстоят большие трудности, которые удастся

преодолеть только в ряде повторных попыток. Однако исследование приобретает особое значение именно потому, что семенник лосося оказался тем первым объектом, у которого химические процессы, сопровождающие деление ядра, стали доступными для непосредственного наблюдения[19]. Труды Мишера благодаря избранному им направлению, несмотря на незаконченность работы, должны составить основу для новой важной области исследований.

[19] По этому поводу см. с. 165.

ПРОТАМИН — НОВОЕ ОРГАНИЧЕСКОЕ ОСНОВАНИЕ ИЗ СПЕРМАТОЗОИДОВ РЕЙНСКОГО ЛОСОСЯ[1*]

Сперматозоиды рейнского лосося, которые можно в большом количестве и в очень чистом виде изолировать как из секрета, так и из материала растертых желез в период созревания, в ноябре характеризуются исключительно своеобразным составом, постоянным в количественном отношении. Укажем следующие компоненты сперматозоидов: лецитин (7,5%), холестерин (2,2%), белковые вещества (10,3%), а также преобладающий по количеству (48,7%) нуклеин, богатое фосфором (9,6% P), не содержащее серы альбуминоидное вещество с кислыми свойствами. Вещества подобного рода в неочищенном виде уже были много раз получены (из клеток гноя, яичного желтка[2*], молока и других объектов), но именно из сперматозоидов лосося удалось впервые выделить в чистом виде нуклеин. Об этом веществе я предполагаю сделать позднее более подробные сообщения.

Нуклеин в сперме содержится, однако, не в свободном виде, а образует растворимое солеобразное соединение с органическим основанием — протамином. Для получения последнего многократно экстрагируют массу изолированных сперматозоидов горячим спиртом для удаления жира, лецитина и т. д. Затем проводят быструю экстракцию остатка разбавленной соляной кислотой, избыток кислоты нейтрализуют и после этого добавляют хлорид платины. Основная масса протамина осаждается как хлороплатинат аммония.

Через пару недель окрашенный в желтый цвет осадок из смолистого становится зернисто-кристаллическим и полностью отделяется от раствора в форме агрегатов из микроскопических шариков и кружочков. Этот осадок практически нерастворим в воде, спирте, хлороформе и бензоле, но растворяется в избытке соляной кислоты. После полного осаждения хлоридом платины освобожденный от платины фильтрат не дает помутнения со смесью йодистого калия и йодистой ртути и с фосфорновольфрамовой кислотой; это свидетельствует об отсутствии какого-либо иного основания. Иногда в осадке хлорида платины обнаруживается небольшое количество фосфора, входящего в состав продуктов разрушения нуклеина. В этом случае повторно разлагают осадок H_2S и еще один раз проводят

осаждение. Получаемое в итоге соединение протамина в токе сухого воздуха при 100° не отдает соляной кислоты, а при 105° препарат удается высушить без разложения или ороговения. При температуре около 120° наблюдается плавление с начинающимся разложением.

Второй методический подход для получения протамина заключается в том, что после экстракции разбавленной соляной кислотой и нейтрализации до слабокислой реакции раствор обрабатывают нитратом ртути. При этом получают объемный белый осадок, из которого после разложения сероводородом можно выделить азотнокислый протамин. Таким же путем получают солянокислую соль протамина после разложения осадка хлороплатината аммония. Обе соли кристаллизуются с трудом при очень медленном испарении в форме призм и столбиков, вероятно, относящихся к ромбической системе; при более быстром выпаривании получают клейковидную массу.

Обе соли легко растворяются в воде, с трудом растворяются в спирте и совсем нерастворимы в эфире. Они обладают очень своеобразным вкусом, главным образом вяжущим, одновременно сладким и слегка горьким.

Наряду с вышеописанными растворы солей протамина дают реакции с фосфорномолибденовой кислотой, раствором йодистой ртути и йодистого калия. При этом наблюдается появление напоминающей молоко мути, вызываемой микроскопическими полужидкими капельками, которые растворяются при большом избытке кислоты. Эта реакция применима для обнаружения протамина и в очень разбавленных растворах. Молочную муть дают также железосинеродистый калий и платиново-синеродистый калий с солянокислой ртутью. Азотнокислое серебро дает хлопьевидный осадок. Аммиачный раствор серебра, напротив, не вызывает помутнения.

При осторожном выпаривании маленькой пробы небольшой порции соли протамина с азотной кислотой остается пятно лимонно-желтого цвета. При обработке содой пятно окрашивается в ярко-красный цвет, который переходит в фиолетовый при нагревании. Эта реакция весьма примечательна, так как она точно совпадает с поведением ксантина.

Свободный протамин получают путем разложения осадка фосфорномолибденовой кислоты баритом, после удаления избытка барита — пропусканием углекислого газа. Получаемый в результате протамин имеет вид клейковидной массы, которая не испаряется без разложения и при растворении в воде дает щелочную реакцию, но нерастворима ни в спирте, ни в эфире.

Были проведены анализы солей протамина и нашатырной платины. Получены следующие данные (%):

	I	II	III	IV		V
C	—	24,01	—	23,16	23,21	23,11
H	—	—	—	4,35	4,29	4,26
N	15,43	15,87	15,10	15,00	—	—
Pt	23,76	23,13	23,66	24,64	24,53	—
Cl	—	—	25,05	—	—	—

Эти цифры позволяют сделать заключение о том, что на пять атомов азота приходится один основной остаток аммония. За исключением анализа II, содержание платины, однако, всюду несколько выше, чем это должно было бы соответствовать пятой части азота; следует отметить и недостаточно хорошее совпадение этих величин. Поскольку весьма тщательное промывание водой позволяет исключить чисто механическое загрязнение хлоридом платины, то получаемые результаты, без сомнения, объясняются некоторой слабой способностью протамина к образованию кислых солей. Дело в том, что если рассчитать из приведенных выше анализов (после вычета хлорида платины) состав свободного основания, то анализы совпадают, во всяком случае, настолько, что становится маловероятным наличие в препарате смеси нескольких оснований, впрочем, такого рода предположение не находит никакого подтверждения и при рассмотрении всех других свойств этого вещества. При расчете указанным способом получаемые результаты лучше всего согласуются с формулой $C_9H_{20}N_5O_2(OH)$.

	Вычислено, %	Найдено, %				
		I	II	III	IV	V
C_9	43,72	—	43,00	—	44,14	43,92
H_{21}	8,50	—	—	—	8,68	8,52
N_5	28,34	28,33	28,16	27,72	28,48	—
O_3	19,44	—	—	—	—	—

Путем осаждения хлоридом платины было установлено, что содержание протамина в сухих сперматозоидах составляет 26,8%. Таким образом, из семенников одного-единственного довольно крупного рейнского лосося можно получить около 20—30 г этого вещества. Однако оно появляется в железе лишь непосредственно перед половым созреванием, так что вплоть до октября поиски его безрезультатны[1].

[1] Более подробные сведения о химии спермы различных животных приведены в только что вышедших из печати «Трудах Базельского общества естествоиспытателей», 1874, т. IV, вып. 1 (*прим. Ф. Мишера*).

НАУЧНАЯ ПЕРЕПИСКА[1*]

ОТКРЫТИЕ И ИЗУЧЕНИЕ НУКЛЕИНА. 1869—1870. ПИСЬМА I—XV

I[2*]

[Тюбинген, 26 февраля 1869 г.] Я намеревался сразу же сообщать тебе, как только на тот или иной вопрос, относящийся к предмету изучения, были бы получены бесспорные ответы. Однако я оказался в такой области науки, где четкое завершение исследования было, вероятно, более труднодостижимым, чем в других областях. Когда я думал, что достиг какого-то punctum fixum, вскоре возникали новые сомнения, и, таким образом, выполнение моего намерения отодвигалось все дальше и дальше.

Я поставил перед собой, в полном согласии с Гоппе[-Зейлером], задачу найти объяснение строению лимфоидных клеток. Меня привлекала мысль проследить имеющие всеобщее значение закономерности жизни клетки на простейших и наиболее самостоятельных формах животных клеток. Однако как свойства, так и количество исследуемого материала в известной мере ограничивали мою задачу. Соответствующие клетки удавалось выделить из лимфатических желез с большим трудом и в малых количествах. Напротив, ежедневно можно было получать, хотя и небольшую, порцию свежего гноя. Последний пропитывал повязки, и обычно он был слегка загрязнен небольшим количеством масла и карболовой кислоты.

Прежде всего мы предприняли поиски способа вымывания клеток из повязок, и в частности отделения их от гнойной жидкости. Поваренная соль, селитра и т. п. вызывают набухание протоплазмы до неспособной к фильтрованию массы. Сернокислый натрий, напротив, сохраняет протоплазму совершенно интактной, и, применяя его раствор в концентрации 1 : 10, можно после фильтрования через полотно прекрасно отдекантировать и по желанию промыть клетки, да и довольно хорошо отфильтровать жидкость, что до сих пор не удавалось. Сернокислый натрий, по-видимому, в противоположность солям азотной и соляной кислот вообще не растворяет миозиноподобные вещества. Бо́льшая часть могущего присутствовать свободного жира и детрита оставалась суспендированной в жидкости, и таким образом я получал кашицу, содержащую лишь хорошо сохранившиеся клетки. Для определения содержания щелочных металлов в золе другую порцию промывали азотнокислым барием, что также происходит довольно легко (с потерей небольшого количества миозина). После получения таким путем клеток гноя как таковых дело сводилось к выбору целей и методов исследования. Материала было недостаточно

для поисков продуктов обмена веществ, встречающихся в малых количествах. Для разрешения некоторых вопросов (лейцин и т. д.) материал не имел гарантии достаточной свежести. Примешанный жир очень мешал проведению расчетов. Примесь хлопчатых волокон затрудняла исследование гликогеновых веществ. При промывании также могло кое-что захватываться; вместе с тем задача исследования представлялась в получении наконец-то возможно полной картины собственно химических строительных материалов, разнообразие и организация которых определяют клеточную структуру. Гной для этой цели, вероятно, является одним из самых лучших объектов. Маловероятно, чтобы при работе с другим материалом можно было достичь такого высокого качества гистологических препаратов и тонкого размельчения.

Гоппе-Зейлер очень поощрял мои занятия. Однако одновременно он обратил мое внимание на полное отсутствие методов исследования в этом направлении. Прежде всего была сделана попытка выяснить, можно ли выделить вещества из протоплазмы, притом свободные от веществ ядра, без существенных изменений тех или других. Мы уповали при этом на воздействие солей. Самые разнообразные соли щелочных и щелочноземельных металлов испытывались в трех-четырех концентрациях каждая при постоянном микроскопическом контроле — работа, занимающая исключительно много времени. В одних случаях вообще мало извлекалось, в других получали нефильтруемые студни. Таким путем удавалось получить миозиноподобные тела лишь в незначительном масштабе, так как растворы сразу же становились нефильтруемыми. Набухающее, растворяющее или сморщивающее воздействие различных солей на протоплазму между тем указывает на довольно интересные соотношения, которые уже сами по себе нуждаются в особом изучении.

В эксперименте со слабощелочными жидкостями я получал из растворов путем нейтрализации осадки, нерастворимые ни в воде, ни в уксусной кислоте, ни в очень разбавленной соляной кислоте, ни в растворе поваренной соли, не могущие, следовательно, принадлежать ни одному из известных до сего времени белковых веществ.

Откуда происходило это вещество? Путем очень продолжительного воздействия сильно разбавленной соляной кислоты на клетки удается попасть на такую точку, когда кислота более ничего не извлекает. Остаток состоит частью из изолированных ядер, а частью из ядер, окруженных сморщенной оболочкой. Эта оболочка уже не дает желтого окрашивания с йодом. Очень слабощелочные жидкости (1 : 100 000 углекислого натрия) вызывают побледнение ядер, сопровождающееся сильным набуханием, хотя при этом и не удавалось установить полного растворения. Этот, конечно, известный гистологам факт указывал на то, что это тело могло быть ядром, и поэтому привлек мой интерес.

Самым целесообразным теперь представлялось приготовление чистых ядер. В малых порциях это было вполне осуществимо. Я очень сильно встряхивал с эфиром остаток, полученный после весьма долговременной обработки 1 : 1000 соляной кислотой. В эфир и пограничный слой переходит жир, детрит, продукты распада лецитина и т. д. Из ядер, обладаю-

щих более высоким удельным весом, однако извлекается часть внутреннего содержимого, которая переходит в водный слой и хорошо отделяется в виде тонкого порошка. Хотя ядра и могут, вероятно, быть сморщенными, но выглядят вообще-то очень гладкими, с хорошими ядрышками.

Из таких препаратов я затем получил при помощи воздействия слабощелочных жидкостей вышеуказанное тело в растворе. Таким образом, оно, несомненно, содержится в ядрах. Судя по реакциям, это тело, по-видимому, не является истинным белком, а походит на муцин, хотя и не полностью. Недостает как раз набухания в чистой воде.

Это тело, вероятно, содержалось в качестве примеси в препаратах муцина, полученного в ряде более ранних работ, хотя не вызывает сомнений и присутствие в них и других веществ. В сравнении с экстракцией целого животного (виноградная улитка) или даже сложной ткани мою экспериментальную процедуру можно с уверенностью рассматривать как получение очищенного препарата. Если изолированные ядра на фильтре извлечь разбавленным раствором соды, то остается вещество, которое не растворяется в спирте и эфире и после высушивания снимается в виде напоминающих коллодий чешуек. В этом материале под микроскопом еще удается опознать неотчетливые контуры отдельных ядер.

Это вещество существенно отличается от предыдущего. Оно нерастворимо в углекислом натрии, медленно растворяется в растворах едких щелочей и концентрированных кислотах и быстрее — при нагревании, а в ледяной уксусной кислоте не растворяется и при кипячении.

Судя по этим реакциям, проведенным пока лишь на малых порциях материала, включая еще пробу на серу с отрицательным результатом, второе тело относится к эластическим веществам, но не столь резистентно по отношению к химическим агентам, как так называемый эластин из выйной связки.

Что касается относительного распространения обоих веществ, мне не удалось обнаружить различий между ядрами, например, более старыми и более молодыми; так, малые группы из двух или трех, очевидно принадлежавших ранее одной клетке ядер были столь же устойчивыми, как отдельные ядра.

Исчерпывающая экстракция клеток соляной кислотой (или также уксусной кислотой) является, однако, очень затруднительной процедурой. Проходят многие недели, пока все растворяется. Жидкости не отделяются, и фильтрование идет очень плохо — короче, я не мог продвигаться дальше. Поэтому я попытался получить вещество непосредственно из клеток и отделить от других веществ, которые переходят в слабощелочные растворы. Но тут я угодил в хорошую лужу. Дело в том, что не существует ничего более опасного, чем попытки четкого разделения в области белковоподобных тел. Я, конечно, понимаю, что характеристики последних столь неустойчивы и спорны, и в этом-то и заключается проклятие аморфных тел, что не имеется доказательств чистоты получаемого препарата [3*]. Поэтому и настоящие химики так пугаются работы с этими веществами. Когда я считал себя уверенным в осаждении одного-единственного тела, то присутствовали и другие, потому что применялось

чуточку слишком много или слишком мало соли или кислоты. Если я потом промывал довольно кислым раствором, то получалась настолько тонкая эмульсия, что я не мог фильтровать.

Я получил препараты с весьма неодинаковыми свойствами. В одном из препаратов я заметил значительное загрязнение лишь после того, как с большим трудом и затратой времени подготовил его для элементного анализа.

Это побудило меня ближе изучить свойства различных белковых веществ, и с уверенностью могу сказать, что благодаря такому гадательному экспериментированию я приобрел известное личное знакомство со всем разнообразием белковых, желатиновых и слизистых веществ.

Я позволил себе еще больше запутаться, так как получал из почек, печени, семенников и содержащих ядра кровяных телец подобные вещества путем воздействия слабощелочных жидкостей; этими веществами я, однако, сразу подробно не занимался.

Лишь в последнее время я применил простое средство, о котором мне следовало бы уже давно вспомнить и которое, как кажется, приводит к цели. Я подвергаю клетки кипячению со спиртом для удаления лецитина и затем искусственно их перевариваю. Остается лишь рыхлый, легко фильтруемый порошок, состоящий из чистых ядер с очень малым количеством детрита, который при промывании полностью уходит через фильтр.

Ядра немного сморщены, но блестящие, гладкие, никоим образом не закруглены, с четкой оболочкой и ядрышком. Нельзя удержаться от предположения, что мы получили как минимум бо́льшую часть основной массы ядерных компонентов в хорошо сохраненном виде.

Теперь я могу получать таким путем желаемые количества ядер в течение короткого времени и надеюсь в ближайшем будущем иметь возможность сообщить более подробно о ядерных веществах. Кроме того, мне очень хочется знать, непригоден ли этот метод изолирования для решения физиологических вопросов.

Вещества протоплазмы я изучаю по следующему методу.

I. Порция, промытая раствором глауберовой соли.

а) Экстракция совершенно нейтральной водой при встряхивании на воздухе.— Параглобулин?

б) Остаток экстрагируется с 1 : 2000 раствором углекислого натрия, точно нейтрализуется.

Осадок.

в) Обработка 10%-ной поваренной солью.— Миозин и т. п.

г) Остаток обрабатывается соляной кислотой 1 : 1000.— Щелочной альбуминат.

д) Остаток содержит вещества ядра, более или менее пригодные для дальнейшей работы.

II. Порция, промытая раствором глауберовой соли. Частое перемешивание с теплым абсолютным спиртом в течение продолжительного времени.

а) Остаток переваривается (вещества ядра).

б) Раствор упаривается.

Извлекают эфиром лецитин, который удается определить только по содержанию фосфора в продуктах его распада.

Так же растворяется холестерин.

Остаток может содержать церебрин, что еще требуется установить (образование сахара после обработки кислотами).

В настоящее время наряду с приготовлением ядер я занимаюсь определением экстрактивных веществ и солей.

По мнению Гоппе-[Зейлера], предыдущие анализы золы почти обесценены из-за невнимания к лецитину. По поводу неорганических веществ и их отношения к органическим можно было бы ответить на интересные вопросы, если бы отделение органических веществ удавалось провести без участия таких сильнодействующих средств, как кислоты и щелочи. В частности, меня интересует, с чем связано железо.

До сего времени мне не удалось получить из клеток желатин. Несмотря на это, я поставлю еще опыты.

Успехов я достигал медленно и шел к ним не прямым путем, но меня утешала и оправдывала мысль, что оказавшиеся важными здесь точки зрения и методы тканевого анализа могут оказаться плодотворными и при работе с другими объектами.

II
(О ПОВЕДЕНИИ ГНОЯ В СОЛЕВЫХ РАСТВОРАХ) *

Дорогой друг!

В соответствии с твоим пожеланием посылаю несколько заметок о поведении гноя в солевых растворах.

Причина того, что гной, как правило, не дает с водой хорошую суспензию, состоит в присутствии определенного белкового тела в гнойной жидкости, которое, подобно вителлину яичного желтка или миозину мышц, с водой выпадает в осадок. В осадке клетки слипаются в лоскуты и мембраны.

Растворы многих нейтральных солей щелочных металлов препятствуют этому выпадению в осадок, поскольку они являются растворителями для только что названного белкового тела. Сюда относятся, например, поваренная соль и селитра. Однако эти соли непригодны для разбавления гноя, потому что они вызывают набухание самих клеток до вязкого геля. Лишь очень разбавленные (0,5—0,75%) растворы поваренной соли вызывают настолько слабое набухание, что не исключена возможность их употребления с пользой.

Действительно, полупроцентный раствор поваренной соли уже многократно использовался для спринцевания полостей тела (например, у Брунса в Тюбингене). При этом меньше считались с трудностями суспендирования гноя, чем с тем обстоятельством, что этот солевой раствор в соответствии с имеющимися данными особенно индифферентно ведет себя по отношению к протоплазме тканевых элементов; ожидали, что этот раствор будет вызывать меньше раздражений и воспалений, чем чистая

вода или какая-либо иная жидкость. Я не располагаю сведениями о достижении очевидных успехов в этой области.

Лучше всего для разбавления гноя подходят сернокислые соли щелочных металлов. Я обычно применяю насыщенный на холоду раствор глауберовой соли, который разбавлен 9 объемами воды. Клетки при этом хорошо сохраняются, не возникают гели, а образуется лишь эмульсия, из которой они через некоторое время отделяются.

III[5*]

[11 июня 1869 г.] Я теперь показал, что в ядрах клеток дрожжей содержится очень похожий неперевариваемый альбуминат. В настоящее время провожу поиски в различных железах и мозге. Выделение белковых веществ протоплазмы представляет для меня большую головоломку. Для того чтобы на основании группирования химических компонентов понять лежащую перед нами пластическую картину, недостает, как мне признался и Гоппе-[Зейлер], точных понятий о набухании и впитывании.

IV[6*]

[21 августа 1869 г.] Я все еще занимаюсь подробным анализом ядерных веществ. При этом выяснилось, что они относительно очень богаты фосфором, и притом не в форме лецитина. Однако подробности я еще не могу сообщить. К окончательной редакции я уже приступил. Как и все химические статьи, она будет иметь лишь небольшой объем, примерно как небольшая диссертация.

Когда я просматриваю свои заметки, то нахожу в них довольно большое число наблюдений, которые я сейчас не в состоянии использовать: это предварительные работы для дальнейших публикаций меньшего размера, которые, вероятно, можно было бы быстро закончить в случае, если какое-то время я буду исключительно этим заниматься. Я тогда от этого отказался, поскольку было слишком много всего сразу. Сюда входят некоторые химические данные по дрожжевым грибам, клеткам почек и печени, окрашенным кровяным тельцам и другие с особым вниманием к веществам ядра. Когда-нибудь придется заняться и куриным яйцом в связи с вопросом о клетках белого желтка. Таким образом, я уже как бы получил некоторый материал, чтобы работать немного для себя.

V[7*]

[Лейпциг, 20 декабря 1890 г.] Чем дальше я продвигаюсь в подготовке планов моих ближайших работ, тем сильнее возникает потребность атаковать вопрос с различных позиций, по возможности без помех и еще какое-то время избежать участия в дискуссиях в прессе. В том виде, в котором сейчас осуществляется публикация, она бы меня, я это чувствую слишком хорошо, повергла в лихорадочную спешку, в состоянии которой, как я хорошо знаю по опыту, каждый раз затемняется путь как

передо мной, так и позади меня. Нить, по которой ощупью продвигаешься вперед, местами так тонка, что легко разрывается при грубом прикосновении. Как только я немного закреплюсь, то, вероятно, у меня появится возможность там и сям бросить взгляд на освещенный с противоположной стороны задний план, и, таким образом, мне уже не надо будет так сильно опасаться, что я потеряю равновесие. Мне казалось возможным, что уже ранняя публикация моей теперешней работы могла ввергнуть меня в дискуссию по более или менее важным положениям и тем самым прервала бы мое продвижение. В связи с этим я хотел, чтобы публикация появилась лишь тогда, когда я сам снова занял бы твердую позицию и когда нить была бы вновь в моих руках. Прекраснее всего было бы, если бы я все же еще подождал, но я вижу, что это невозможно, и, следовательно, отошлю Гоппе-[Зейлеру] работу в том виде, как она была еще до моего отъезда в Берлин. Что касается продолжения моих исследований, то независимо от проверки и дополнения гнойных дел предо мной вырисовываются следующие задачи.

1. Чисто химическое исследование нуклеина из яиц.
2. Химические процессы в созревающем яйцевом фолликуле.
3. Ядра и ядерные образования в различных тканях, особенно в тканях архибласта.
4. Прогрессивный и регрессивный метаморфоз в области патологии.

С наибольшим нетерпением я ожидаю результатов по задаче № 3, именно потому, что я здесь еще ничего не знаю. Тем не менее мне представляется совершенно необходимым сначала провести вплоть до определенной точки чисто химическое исследование, для которого куриное яйцо служит таким прекрасным материалом. Следует выполнить ряд элементных анализов, далее путем простых расщеплений должна быть ближе изучена содержащая фосфор атомная группировка. Вопрос о том, действительно ли при расщеплении этого вещества могут образовываться истинные белки, может быть разрешен при помощи анализов. Дальше я пока, пожалуй, не буду углубляться. Однако если я это предварительно не проделаю, то никоим образом не смогу физиологически оперировать с нуклеином. Если окажется, что для проведения этих работ действительно нет возможностей в Базеле, то мне придется решиться на пару недель или месяцев снова отправиться к Гоппе-[Зейлеру] или все-таки передать ему эту работу, хотя я в полной мере понимаю твои возражения по этому поводу...

На что я решительно надеюсь, так это четко выяснить процесс возникновения лецитина из компонентов тканей и показать правильное положение этого тела на физиологической лестнице...

Разумеется, что я и не смогу на это рассчитывать, пока не поработаю с некоторыми компонентами растительных тканей, а именно с материалом из спор различных мхов, грибов и т. д. Если справедливы мои теперешние предположения, то обычный истертый в порошок плаун должен содержать нуклеиновые вещества, хотя, возможно, и в малорастворимой форме. Вообще здесь имеется множество подходов, которые я лучше отложу на неопределенное будущее.

Наконец, были бы наверняка полезны некоторые анализы патологически измененных клеток печени и почек, нервных волокон и т. д., что дало бы возможность отдифференцировать определенные процессы, которые в настоящее время объединяются понятием воспаления и дегенерации, на самом же деле, вероятно, весьма различны. В зависимости от количественных соотношений ядерных веществ, белков и вторичных продуктов распада можно было бы более отчетливо, чем теперь, судить об истинной физиологической ценности происходящих изменений. Микроскоп, как это видно на примере изучения яйца, несомненно, зачастую оказывается бесполезным для исследователя. В качестве примера можно себе представить по крайней мере три процесса:

— питательную прогрессию (прирост количества протоплазматического белка, увеличение клетки?);

— генеративную прогрессию (прирост веществ ядра уже как предварительная стадия для деления разрастающихся клеточных масс. Карцинома?);

— регрессию (накопление жира, лецитина и продуктов распада).

Эти три категории, помимо которых, вероятно, имеются и другие (как, например, в яйце), могут встречаться все три одновременно в совершенно различном соотношении; по своему происхождению они могут зависеть друг от друга, но быть также и в значительной степени независимыми, когда одна кажется или действительно является лишь следующей стадией превращения другой. При микроскопическом наблюдении один процесс может полностью маскировать другой. Один и тот же аналитический результат может быть использован различным образом. Однако что-то при этом должно было бы постепенно определиться. Правда, было бы лучше дождаться еще данных в области микроскопии. Из всего этого ты можешь видеть, насколько труден для меня выбор. Но ты должен будешь также понять, что мне противно публиковать по крохам какие-либо результаты.

VI [8*]

Дорогой господин доктор!

[Тюбинген, 24 февраля 1870 г.] Оба Ваших любезных письма, так же как Вашу статью я своевременно получил и должен попросить извинения за то, что не написал раньше. Главной причиной моего молчания были двоякого рода сомнения, а именно, во-первых, в отношении Вашей работы в смысле достоверности существования фосфорсодержащего ядерного вещества, которое якобы не должно растворяться в спирте и эфире, и, во-вторых, касательно тетради медико-химических сообщений, возможность выпуска которой в достаточно короткое время была для меня неясной. Вскоре после получения Вашей статьи я выделил очень удачный препарат гноя, очень чистый и свежий, из карбункула, отфильтровал жидкость, насколько это было возможно, в течение двух дней, дал в соответствии с тем, как Вы поступали, несколько раз осесть гнойным тельцам в разбавленном растворе глауберовой соли и затем исследовал их количественно на соотношение составных частей. Мне удалось, так же

как Вам, выделить из гноя церебрин и приблизительно количественно определить его содержание; часть белков обрабатывали переваривающей жидкостью, другую часть озоляли без указанной обработки. В этой золе найдены Ca, Mg, P_2O_5. Однако при этом было найдено больше Ca и Mg, чем необходимо для насыщения P_2O_5, так как после осаждения аммиаком я еще мог обнаружить Ca (и следы Mg) в отфильтрованном растворе. Это не согласуется с Вашими результатами, причем я не могу объяснить причину расхождений. Я не могу решиться критиковать Ваши результаты на основании лишь одного этого опыта, который, возможно, дал совершенно ошибочный результат, но, как уже сказано, не в состоянии объяснить причину расхождений. Я хотел послать Вам все исследование в готовом виде, но поскольку мне нужно проделать еще несколько определений золы в водной и спиртовой вытяжках, а я не могу этим заняться из-за всяких злосчастных деканатских дел и годовых отчетов, то не буду больше откладывать написание Вам всего этого и в особенности еще и из опасения, что слишком задержу Вашу статью. Я не могу, как раньше надеялся, в следующем месяце выпустить первую тетрадь «Сообщений», это произойдет лишь в мае, и поэтому я бы посоветовал, чтобы Ваша работа была передана в Пфлюгеровский архив, и прошу Вашего разрешения на включение работы также и в «Сообщения» или публикации в виде резюме с самыми важными результатами Ваших исследований по гною в «Berliner Centralblatt fur medicinische Wissenschaft», а полный текст работы оставить тогда за моими «Сообщениями». Последнее мне было бы естественно приятнее всего, но я считаю для себя очень важным, чтобы результаты Вашей работы не оставались далее неопубликованными. Я оставляю у себя Вашу работу и буду ожидать Вашего решения. Если Вы захотите опубликовать работу в Пфлюгеровском архиве, то я ее перешлю и напишу Пфлюгеру сразу же по получении Вашего письма.

То, что Вы пишите мне о лаборатории Людвига [9]*, может лишь подкрепить то прекрасное представление, которое создалось у меня о Людвиге и его институте; трудно не позавидовать. Какие красивые работы уже вышли из этого института со времени его основания. Исследования по пропусканию крови через свежие органы мне уже известны из двух статей, которые мне прислал Людвиг; я раньше сам планировал такие работы и порадовался, когда обнаружил, что впервые этот план с успехом осуществился в работе Алекс[андра] Шмидта [10]* из лаборатории Людвига, но я все же думаю, что указанные работы могут принести лишь ограниченную пользу, поскольку органы скоро отмирают и итог исследования еще не позволяет определить, происходят ли обнаруженные процессы в крови или в паренхиме органов или же, что кажется наиболее вероятным, протекают там и тут. И в этом отношении фундаментальная проверка моего представления должна была бы опять затронуть неокрашенные кровяные тельца. Их жизнедеятельность должна оказывать влияние на состав крови, в особенности на содержание газов, и поэтому их количество в порции крови может служить в качестве фактора при расчете всех таких опытов. Я предполагаю в ближайшее время лично провести или кому-нибудь поручить исследование селезенки и содержащихся в ней

лимфатических телец. Сейчас я все еще занят продуктами восстановления гематина. В отсутствие кислорода гематоглобин расщепляется подкисленным спиртом или содержащим KOH спиртом на выпадающий в осадок довольно белый белок (в случае применения калия, однако, пурпурно-красный) и красивое пурпурно-красное (как в кислом, так и в щелочном растворе) растворимое в спирте красящее вещество, которое, особенно в щелочном растворе, при соприкосновении с кислородом тотчас же переходит в гематин. Мне не удалось вновь получить это вещество из гематина путем воздействия восстановителей, хотя я и получил великолепные пурпурно-красные пигменты при восстановлении гематина. Очевидно, гематин ведет себя подобно изатину, только изатин не образуется при спонтанном окислении индиго. Поскольку все продукты восстановления и вообще все продукты расщепления гематина легко осмоляются и с трудом или совсем не кристаллизуются, их изучение настоящее мучение. В моей лаборатории, которая, как Вам известно, зимой не заполнена, теперь проводится довольно большой ряд специальных исследований: по белкам мышц, по ксантопротеиновой кислоте, золе молока и молозива человека, составным частям хрящей и расщеплению хондрина. Работа по параальбумину почти окончена. Кроме того, ведется несколько работ чисто химического характера.

Я очень хочу на пасху приехать на пару дней в Лейпциг, но не знаю еще, смогу ли осуществить это намерение. Мне было бы очень приятно повидать Вас.

Могу ли я попросить Вас написать мне несколько слов в отношении Вашей работы. Засвидетельствуйте, пожалуйста, мое глубочайшее почтение проф. Людвигу.

С сердечным приветом преданный Вам Ф. Гоппе-Зейлер.

VII [11]*

Глубокоуважаемый господин профессор!

[Лейпциг, 21 марта 1870 г.] Сердечно благодарен за Ваше любезное письмо и Ваши интересные сообщения: меня чрезвычайно обрадовала перспектива, что я смогу Вас снова приветствовать здесь в Лейпциге. Не меньше будут обрадованы и в здешнем институте возможности наконец-то увидеть Вас здесь. Проф. Людвиг и химик-ассистент д-р Хюфнер просят тем временем передать Вам свое нижайшее почтение в надежде на скорое личное знакомство.

Что касается моей работы, то я благодарю Вас за заботу о ее скорейшей публикации. Однако если речь идет только об одном или двух месяцах задержки в выходе Вашего журнала, то я не вижу никаких оснований для принятия каких-либо специальных мер. Если бы я так лихорадочно стремился увидеть свою работу напечатанной, то, наверно, послал бы ее еще тепленькой в октябре Пфлюгеру. Я думаю, что пересылка работы к Пфлюгеру теперь едва ли будет способствовать ускорению публикации. На предварительное сообщение в «Centralblatt» я бы пошел с большой неохотой, поскольку по различным причинам не согласен с гос-

подствующей теперь системой предварительных афористических публикаций — соображения, которые я разделяю со многими моими учителями и более молодыми сотрудниками.

Самое большее, о чем я мог бы Вас попросить, это проставить в конце рукописи дату и место завершения ее написания (Базель, октябрь 1869 г.) или, если Вам это больше нравится, дату поступления работы.

Как я, впрочем, недавно увидел, Вы поместили разработанные методы изолирования для клеток и ядер в новое издание Вашей книги: поскольку я рассматриваю эти методы как самый существенный результат работы, то мне кажется, что все необходимое в части предварительного сообщения уже сделано.

При всем том я охотно исходил из молчаливого предположения, что Вы вообще-то склонны принять работу в Ваш журнал в том виде, в котором я ее прислал. При Вашем предложении относительно Пфлюгеровского архива у меня появилась сначала мысль, не хотите ли Вы таким путем сделать мне легкий намек на то, что статья в целом для Вас неприемлема. Однако я отверг эту мысль, так как, судя по характеру моих соображений, изложенных в первом письме, я мог надеяться на полную откровенность ваших высказываний по поводу моей статьи; я ведь охотно допускал Ваши замечания относительно формы и содержания и уже заранее согласился предпринять в ответ на возможные пожелания с вашей стороны необходимую переработку.

Ваши сомнения касательно фосфорсодержащих ядерных веществ не были для меня неожиданными, ведь часть экспериментов я провел не в Вашей лаборатории. Но я начал бы лишь в том случае искать причины моего заблуждения, если было бы показано, что в действительно чистых промытых ядрах количество найденных при озолении оснований достаточно для связывания найденного при сжигании с содой и селитрой количества фосфорной кислоты.

Ибо если фосфор при нагревании появляется не в виде фосфорной кислоты, как это, по-видимому, следует из моих наблюдений, а исчезает в какой-то иной форме, то становится очевидным, что на основании самого по себе озоления не может быть дано удовлетворительного заключения.

Даже та возможность, что эти вещества, подобно муцину, являющиеся до известной степени аналогами кислоты, содержат немного кальция или магния, но, кроме того, еще фосфор в органической форме, с которым кальций никак не связан, представляется мне во всяком случае не обязательной и может быть a priori отвергнута. В этом случае при определенных условиях исследования можно было бы получить даже углекислый кальций.

Я прошу Вас тем временем рассматривать это не как утверждение, а лишь как вырисовывающуюся передо мной отдаленную возможность, которую, однако, желательно учитывать при интерпретации фактов. Меня порадовало, что Вы воспользовались случаем, чтобы провести анализы золы гнойных телец. Как раз в данном случае мои результаты особенно нуждаются в проверке, и я дал понять также в моей статье, что цифро-

вым данным этого единственного анализа, хотя и выполненного мной наилучшим образом, я не хотел бы придавать слишком большого значения. К сожалению, обстоятельства в Базеле не позволили осуществить повторный анализ. Мне стало ясно лишь позднее, что водную вытяжку нужно было озолить отдельно от остатка. Несмотря на это, я привел результаты, потому что они, если даже лишь приблизительно верны, могли бы дать некоторую картину составных частей золы совершенно необработанного до сих пор объекта, а именно изолированных клеток гноя.

Впрочем, мне a priori кажется не очень вероятным, чтобы количественные соотношения неорганических солей были бы одинаковыми при всех условиях и чтобы каждый последующий анализ без оговорок мог рассматриваться как поправка к предыдущему. Для этого сначала следовало бы особо установить, не приводит ли к различным результатам неодинаковая продолжительность промывания. Разве в гное, который долго застаивался, например гное первой пункции из карбункула, уже не обнаруживаются незаметные для глаза самые начальные стадии процесса, который в дальнейшем приводит к образованию известковой кашицы и известковых камней в осумкованных очагах, я имею в виду увеличение концентрации солей земель в сравнении с растворимыми солями.

Таким же образом можно было бы представить себе и многое другое. Как бы то ни было в действительности, я с большим интересом ожидаю результатов Ваших исследований, расскажете ли Вы мне о них устно или же я их прочту напечатанными в журнале.

VIII [12*]

Глубокоуважаемый господин профессор!

[Базель, июль (?) 1870 г.] Берусь за перо, чтобы сообщить Вам, что с 13 числа сего месяца я опять поселился в Базеле; в связи с этим хочу Вас попросить пересылать возможные корректуры по указанному ниже адресу. Как мне ни жаль расстаться с таким исключительно стимулирующим окружением как в отношении учителей, так и в отношении сотрудников, но я все думаю, что самостоятельное развитие в будущем лучше всего пройдет в тиши. Лейпцигский физиологический институт в этом году был форменным образом своего рода международной научной биржей: итальянцы, французы, шведы, норвежцы, русские, американцы, магометане толпились вокруг лабораторных столов. Однако куда больший интерес представляет обстоятельство, что почти все современные физиологические школы были представлены или своими учениками, или бывшими ассистентами — Биддер и Шмидт, Фойт, Гельмгольц, Дюбуа-Реймон, Кюне, Реклингхаузен, Брюкке и т. д. Каждый вносит что-то свое, и даже за Вашим покорным слугой, как отводком из Вашей лаборатории, было признано право давать мудрые советы хотя бы по вопросам, касающимся гемоглобина. Благодаря тому что по отдельным предметам каждый может лучше судить, чем все другие, в короткое время можно, как бы играя, самым решительным образом расширить кругозор всей лаборатории.

Ваше намерение посетить Лейпциг не осуществилось, здесь с большой радостью ожидали встречи с Вами. Однако Ваше тогдашнее намерение ведь только отсрочено, но не отменено совсем.

Мои планы на ближайшее время состоят главным образом в том, чтобы вновь взяться за продолжение биохимической работы с того места, где она была прервана прошлой осенью. Я попытаюсь с моими химическими делами куда-нибудь пристроиться, будь то приватно или в лаборатории кого-либо из здешних химиков, и наряду с этим под покровительством проф. Гиса буду проводить микроскопические исследования, которые, как я убежден, должны изо дня в день происходить в тесном единении с химическими, если мы хотим здесь чего-либо достичь. Вивисекционное направление, с которым были связаны мои работы в Лейпциге, не привлекает меня на длительное время, кроме тех случаев, когда действительно можно пролить свет на процессы обмена веществ путем выключения или изолирования органов. Однако для достижения этой цели я считал очень важным овладение всеми теми методами, которые используются в указанной области исследования.

Весной в течение некоторого времени я упражнялся в откачивании и анализе газов крови. Газовый насос Людвига при правильном обращении действительно исключительно надежен, работает очень быстро (4—5 выкачиваний в течение послеобеденного времени) и притом стоимость его составляет приблизительно $^1/_3$ стоимости насоса Пфлюгера.

Кроме того, фактически все самые трудные операции, выкачивания, перезарядки и т. д. (Сеченов и др.), до сего времени выполняются институтским механиком Сальвенмозером, который в этом деле, как и во многих других, имеет солидные познания и без которого я вообще не мог бы себе представить здешний институт.

Относительно ближайшего выпуска Ваших медицинских химических исследований я еще нигде не встречал каких-либо указаний, в том числе даже в указателе Хиршвальда, в котором сообщается о находящихся в процессе публикации медицинских работах. В связи с этим я получаю с разных сторон нетерпеливые запросы о судьбе моих тюбингенских исследований. Я сам, правда, не разделяю в той же мере это нетерпение, но я все же был бы вам очень благодарен, если бы в случае задержки публикации дальше чем до исхода лета Вы обратили на это мое внимание; в этом случае я бы послал короткое изложение результатов в «Труды Базельского общества естествоиспытателей», что связано с представлением меня к званию приват-доцента и т. д. Если уже не слишком поздно, то я бы хотел еще раз высказать мое настоятельное желание получить для просмотра хотя бы корректуру.

О том, что Вы вообще приняли статью для публикации, я сужу на основании отсутствия противоположных сообщений.

IX [13*]

Глубокоуважаемый господин профессор!

[Базель, август 1870 г.] Рискуя найти в эти военные времена для плодов мирного труда не слишком благосклонный прием, я еще раз сту-

чусь в Вашу дверь в надежде на Вашу испытанную доброту. В настоящее время меня так часто и настойчиво спрашивают о судьбе моей тюбингенской работы, что, хорошо или плохо, я, по-видимому, должен навести хоть какие-либо справки о состоянии моего первенца.

Начиная с февраля я собственно нахожусь уже в некотором недоумении о положении дела. С февраля и до середины лета не было никакой необходимости спешить. Но теперь меня уверяют, что намеченному здесь еще до нового года занятию мной кафедры оказало бы существенную пользу представление этой публикации, хотя и не в форме обычной диссертационной работы. В связи с этим для меня, конечно, было бы очень желательным довольно быстрое появление книжки Вашего журнала.

Что касается причины задержки, то я хорошо могу себе представить, что после того как дело уже затянулось до июля, начало войны внезапно затормозило все издания, за исключением журнальной литературы и злободневных брошюр. Несмотря на это, для меня было бы очень важным узнать что-либо определенное, а именно находится ли статья в настоящий момент в печати или же она отложена, возможно, даже на неопределенный срок. В первом случае я хотел бы повторить свою просьбу о присылке корректуры. Если же статья еще не пущена в печать, то я в ближайшее время доложил бы ее содержание в здешнем обществе естествоиспытателей с тем, чтобы удовлетворить существующие здесь требования.

На этот случай я настоятельно прошу Вас возвратить мне рукопись, поскольку у меня нет полной копии. Я бы также охотно воспользовался такой возможностью, чтобы сделать некоторые маленькие формальные изменения в редакции рукописи. Я бы смог прислать ее еще своевременно для печати.

Только в том случае, если выход Вашей тетради откладывается на более долгий срок или вообще находится под вопросом, я оставлю рукопись у себя; я тогда вообще ограничился бы лишь кратким предварительным сообщением в каком-либо журнале, а с более подробными заключениями подождал до тех пор, пока сам продвинусь немного дальше в изучении предмета.

В настоящее время я еще занят доработкой моих лейпцигских исследований; в течение всего этого месяца надеюсь где-либо пристроиться с химией, для того чтобы продолжить прежнее направление.

X [14*]

Дорогой господин доктор!

[Тюбинген, 6 октября 1970 г.] Только что получил Ваше второе письмо и тороплюсь Вам на сей раз ответить, поскольку теперь я уверен, что Вы находитесь в Базеле. Как только я успел получить предыдущее письмо, в котором Вы сообщали о своем отъезде в Альпы, как началась война, и я боялся, что мое письмо может Вас не найти. Я сам в течение некоторого времени был в Лотарингии и Бадене. Поскольку я еще жду известий от Хиршвальда, то я не могу указать, когда начнется печатание,

но надеюсь после второго письма на твердый ответ на этих днях. Поэтому я Вам посылаю Вашу рукопись, но прошу Вас, в соответствии с нашей прежней договоренностью и с Вашим нежеланием публиковать ее в другом месте, вернуть мне рукопись в течение 14 дней. Для этого выпуска у меня лежит теперь много подготовленных к печати работ, и я мог бы приступить к изданию хоть завтра. Я посылаю Вам для просмотра одну свою работу, которую я думаю поместить следом за Вашей в этом выпуске. Между Вашей и моей статьями предполагается вставить заметки Плоса о нуклеине в содержащих ядро кровяных тельцах и Любавина о родственном нуклеину или идентичном ему теле, получаемом из молока при переваривании казеина, а также о пептонах (продукты переваривания белковых веществ составляют главную тему) [15*]. Я надеюсь, что моя работа будет способствовать правильному освещению важности Вашего открытия. Для этого выпуска подготовлено также еще 12 других статей. Имея в виду взаимосвязь вышеназванных работ, очень прошу Вас не забирать теперь Вашу статью. Извинение по поводу поздней публикации я приложу к Вашей статье в форме редакционного примечания. Мою статью я прошу возвратить мне вместе с Вашей; у меня нет копии и для меня было бы большим трудом ее опять отделывать. Если Вы будете иметь замечания к моей работе, то прошу Вас прислать их, я их опубликую непосредственно за моей статьей. Вообще для меня было бы очень важно узнать Вашу точку зрения на мои данные и теоретические взгляды.

XI [16*]

Уважаемый господин доктор!

[Тюбинген, 14 октября 1870 г.] Хиршвальд сообщил мне о своем согласии печатать теперь 4-ю тетрадь, поэтому я прошу Вас не только по причине досадно долгого ожидания, но и из-за того, что по своему содержанию Ваша работа открывает тетрадь, возможно быстрее переслать ее обратно; я тотчас же отнесу ее в типографию и пришлю Вам корректуры. Я надеюсь, что Вы своевременно получили Вашу и мою работы, и я с большим нетерпением ожидаю Вашего приговора. Я был бы Вам очень благодарен за вполне откровенное изложение Ваших взглядов. Я надеюсь, что Вам не неприятно, что я занимался этим вопросом и что сразу же за Вашей статьей помещена выполненная мной позднее частично по тем же вопросам работа, я ведь всюду подчеркнул, что опираюсь на Ваши исследования. Печатание здесь происходит очень быстро.

Война, по-видимому, опять несколько приблизилась к Вам, не причиняя, вероятно, больших неприятностей для соседней страны. У нас здесь глубочайший мир и глубочайшие каникулы и, может статься, на долгое время. Один русский проработал в моей лаборатории почти все каникулярное время. О войне нам напоминают лишь раненые, за которыми мы должны ухаживать, и газеты.

С сердечными пожеланиями, преданный Вам Ф. Гоппе-Зейлер.

XII [17*]

Высокочтимый господин профессор!

[Базель, 20 октября 1870 г.] Сердечно благодарен за Вашу посылку и за два Ваших любезных письма; они мне были очень приятны по различным причинам. Прежде всего я выяснил, как обстоит дело со статьей — печатание наконец-то стало двигаться вперед, и я спешу, чтобы с моей стороны не возникло причин для новой задержки.

Присланная вами работа о гное и клетках лимфы очень меня заинтересовала; проверка и дополнение моих данных Вашими опытными руками могут для меня быть только желанными. Важнее всего для меня были бы Ваши данные о нуклеине дрожжевых клеток. Вообще меня очень радует, что вся эта история с ядрами теперь выступает с компактной фалангой фактов; вероятно, никто не может сомневаться, что мы имеем дело с универсальным физиологическим фактором [18*]. Поэтому я не сожалею, что выжидал с предварительными публикациями, особенно в связи с тем, что Вы намереваетесь дать примечание о последовательности во времени между моими и следующими исследованиями.

Вы предложили мне высказать также мои соображения о представленных в Вашей статье фактах. Пользуясь Вашим разрешением, я приложил некоторые дополнительные замечания, которые просил бы Вас напечатать после Вашей статьи; не буду повторять здесь сказанное в этих замечаниях. Мне казалось уместным кратко обрисовать, в каком смысле я понимаю значение обнаруженных фактов. Лишь по некоторым пунктам напишу сейчас несколько слов. Расхождения в наших анализах нуклеина меня мало беспокоили; задача ведь не заключалась в том, чтобы в предварительном исследовании со скудным материалом дойти до совершенно чистого препарата. Это самостоятельная задача, требующая полного внимания; главные результаты нашего исследования навряд ли подвергнутся исправлению в ходе последующих проверок. Опыт скоро покажет, в каких пределах можно проводить переваривание, экстракции и т. д. Меня удивили Ваши данные о почти полном отсутствии калия в золе. И все же это подтверждается одной частью более старых анализов золы и не подтверждается другой. Но откуда же, скажите на милость, окрашенные тельца должны все-таки получать свой калий?

Я думаю, что разрешение этого вопроса будет достигнуто лишь после многочисленных анализов гноя при точном учете условий, при которых гной образовался. Замечу также, что я в этом случае промывал азотнокислым барием, а Вы — глауберовой солью.

Не могу не затронуть еще один пункт, а именно Ваши данные о том, что нуклеин составляет до 34% сухих клеток и, кроме того, они содержат еще 20% нерастворимых веществ и только 13,7% белков (неперевариваемые, нерастворимые в растворе соды). Поскольку я после исчерпывающего переваривания не получаю ничего, кроме ядер, то ядро должно было бы составлять более половины массы клетки и в четыре раза превосходить количество клеточного белка, что для меня необъяснимо при учете микроскопических наблюдений.

Кроме того, количество остающейся после извлечения спиртом фосфорной кислоты должно было быть значительно больше в сравнении с тем, как, по крайней мере, мне казалось. У меня вообще оставалось в непереваренном виде еще 3,6% сухих клеток гноя. Я бы действительно просил Вас о более подробном разъяснении по поводу этого столь необычного результата, поскольку это может иметь большое влияние на все гистологические выводы.

Меня очень заинтересовали Ваши соображения о расщеплении жиров; я знаком с Вашими взглядами по этому вопросу еще с прежнего времени; важно четко отделить образование жиров в теле животного от подобного гниению процесса и показать, насколько различны в своей основе процессы образования ангидридов и синтеза щелочных и кислых гидратов. Наряду с этим важной задачей, несомненно, является проследить процесс превращения белков в жир с точки зрения молекулы белка в целом и установить, какие компоненты, за исключением жира, еще должны образоваться. Появление некоторых веществ получило бы, таким образом, свое объяснение.

Если Вы возьмете в руки полученный пакет, то заметите, что он стал на несколько граммов тяжелее в сравнении с тем, который был отослан Вами. Дело в том, что с прошлой осени у меня имеется еще одна нуклеиновая работа, о принятии которой в выпуск Вашего журнала я хотел бы попросить. Вы, вероятно, менее всего ожидали, что как раз яйцо служит источником наилучшего, самого чистого и богатого фосфором нуклеина [19*]. Меня к этому заключению привело исследование спорного вопроса касательно клеток белого гноя. Эта работа была прервана в связи с моим отъездом в Лейпциг. Лишь в ответ на Ваши письма я решился часть моего материала отдать в печать уже теперь; в соответствии с изложенной в Вашем первом письме программой предпринятого Вами дела по напечатанию материала я, по-видимому, могу надеяться, что Вы пропустите и работу, выполненную не в Тюбингене, связав ее с циклом работ из Вашей лаборатории.

Я надеюсь, что Вы не будете задеты тем, что химические данные использованы для разрешения гистологических вопросов; в худшем случае это могло бы привести к тому, что когда-нибудь односторонний микроскопист смог бы взять в руки Ваш Физиолого-химический журнал.

В Вашем втором письме Вы спрашиваете, не затронул ли меня неприятным образом тот факт, что Вы лично занялись предметом моего исследования и продолжили его. Я надеюсь, что по этому поводу Вы теперь будете спокойны [20*].

XIII [21*]

Глубокоуважаемый господин доктор!

[Тюбинген, 31 октября 1870 г.] Вашу объемистую и хорошо упакованную посылку я своевременно получил с таможни, где, вероятно, предполагали, что она содержит ценности другого рода. Однако я отвечаю Вам лишь теперь, поскольку могу сообщить Вам, что статьи наконец на-

ходятся в типографии, хотя и не все. Ваши дополнительные замечания я отложил, поскольку они мне показались немного растянутыми и не содержащими новых экспериментальных данных, хотя со всем тем, о чем Вы говорите, я согласен вплоть до самых мелочей. Время, когда Вы обрабатывали гной и передали мне результаты Вашей работы, я указал в виде редакционного примечания сразу же на первой странице Вашей статьи и считал себя обязанным это сделать: теперь будет нехорошо выглядеть, если Вы позднее снова подробно выскажетесь по этому поводу. Наши разные результаты по золе необъяснимы и для меня, поэтому я не сказал о них ни единого слова, предоставив это дело будущим исследованиям. С моей точки зрения, будет лучше, если взгляды и выводы, приводимые там, Вы включите в Вашу следующую работу. То обстоятельство, что я проверял некоторые аспекты Ваших исследований по нуклеину, никому не бросится в глаза, так как независимо от того исключительного интереса, который представляет это исследование само по себе, я также несу известную ответственность за работы, выполненные у меня и публикуемые в этих выпусках журнала; все это я выразил во вступлении к моему сообщению и думаю своей работой лишь способствовать поднятию на должную высоту значения Вашего открытия.

Не скрою, что у меня все же было большое желание исследовать элементный состав, продукты расщепления и отношение Вашего нуклеина к лецитину, надеюсь также, что оказался бы не таким уже неспособным в отношении изучения распространения нуклеина, как Вы это, по-видимому, представляете себе, но если Вы мне дадите твердое заверение в том, что без долгого отлагательства проведете эти исследования, то я не буду предпринимать никаких дальнейших работ в этом направлении. К моему сожалению, я уже несколько раз имел возможность убедиться в том, что важные вопросы, которые в моей лаборатории были частью удачно решены, затем полностью забрасывались, несмотря на четко намеченный путь исследования. Если Вы в будущем году ничего не опубликуете по нуклеину и если я не получу к этому времени от Вас письма, то я полагаю, что Вы будете согласны с тем, что я опять начну работать с нуклеином. Я бы хотел оставить для себя только дрожжи и низшие растения, поскольку с этими объектами я веду и другие работы, в которых мне не хотелось бы полностью выпустить нуклеин, хотя он и не играет в этих работах главной роли. То место в моей работе по гною, где я обещаю появление дальнейших сообщений о нуклеине, я вычеркнул.

Близкую тему, которая, однако, непосредственно не связана с нуклеином, я дал для работы д-ру Оболенскому, а именно получаемый по Штеделеру из подчелюстных желез муцин, который он накопил уже в больших количествах. Вашу статью по яичному желтку я очень охотно принимаю, она чрезвычайно интересна для меня. Огромное содержание P в нуклеине желтка, однако, кажется мне очень странным и представляется важным потому, что благодаря вычисляемому отсюда низкому эквиваленту органического остатка в нуклеине (примерно в два раза меньше, чем у лецитина) можно считать, что это вещество яичного желтка не имеет ничего общего с белками и, во всяком случае, имеет

довольно простое химическое строение, для выяснения которого необходимо несколько проб (кипячение с баритовой водой, кипячение с кислотой), а также определение C и H, которые могут быть осуществлены в течение нескольких дней.

С сердечными пожеланиями преданный Вам Ф. Гоппе-Зейлер.

XIV[22*]

Уважаемый господин доктор!

[Тюбинген, 13 ноября 1870 г.] Посылаю Вам первый лист корректуры, который я только что получил. Он содержит множество опечаток, но я надеюсь, что это будет исправлено. У Вас не очень разборчивый почерк.

Относительно нуклеина я попытаюсь применить Ваш метод получения из яичного желтка. В плане распространения нуклеина я прекращаю все дальнейшие эксперименты. Однако тот факт, что нуклеин уже обнаружен в содержащих ядра кровяных тельцах, оказался для меня очень важным.

В слизи подчелюстной железы мы нашли теперь много SiO_2.

С наилучшими пожеланиями преданный Вам Гоппе-Зейлер.

XV[23*]

Глубокоуважаемый господин профессор!

[Базель, ноябрь (?) 1870 г.] Я был очень рад узнать из Вашего любезного послания, что дело теперь действительно пущено в ход, и я спешу ответить, чтобы внести ясность в отношении некоторых затронутых Вами пунктов.

Я вполне понимаю, что Вы сочли мои «дополнительные замечания» не подходящими для публикации; дальнейшие приводимые соображения содержат уточнение моей точки зрения по отношению к гистологии, такое разъяснение и сейчас считаю необходимым, но оно, по-видимому, действительно не подходит к Вашему химическому журналу; последую Вашему совету и отложу эти вопросы для какой-либо возможности в дальнейшем.

Что до моих рабочих планов, то я, конечно, твердо решил посвятить следующий год гистохимическим исследованиям, обращая особое внимание на ядерные вещества. Мне, однако, было бы неприятно, если бы Вы истолковали мое последнее письмо таким образом, как будто я стремлюсь взять на нуклеиновую проблему своего рода патент, тем более по отношению к своему учителю, которому я обязан такой большой поддержкой также и в этом вопросе. Я Вам предложил из всего круга открытых вопросов выбрать для меня такие задачи, которые тесно взаимосвязаны с моими прежними исследованиями и со всем направлением моих мыслей. Ведь само собой разумеется, что Вы смогли бы с успехом изучать этот вопрос, хотя, вероятно, и вели бы работу, исходя из несколько иных то-

чек зрений. Но в результате моего исследования яичного желтка я достиг такого момента, когда предо мной встала задача, которую я предпочел бы передать в руки более опытного и испытанного химика, чем заниматься ею самостоятельно, а именно изучение строения нуклеина на основе того прекрасного материала, который представляет собой яйцо, тем более что я, по крайней мере до настоящего времени, не мог себе представить эту задачу как очень легкую (вещество содержит C, H, O, N, S, P!).

С другой стороны, в силу моей склонности я стремился к дальнейшему изучению тканей, к которому, как видно по содержанию Ваших более ранних писем, обратились и Вы, короче, я предложил Вам своего рода обмен, разумеется, лишь в том смысле, что каждый может заниматься тем, к чему он больше расположен.

Из Вашего последнего письма я с радостью узнал, что Вас интересует яичный нуклеин, и поэтому еще раз повторяю свой вопрос о том, что не хотите ли Вы взять на себя изучение продуктов расщепления, Вы доставили бы мне этим большое удовольствие.

Я думаю, что физиолог делает бо́льшую услугу науке, если ему удается привлечь к решению точных, чисто химических проблем хорошо зарекомендованных специалистов, чем если он сам со своими недостаточными специальными познаниями мучается с этими проблемами. К сожалению, лишь очень немногие физики и химики склонны к самопожертвованию для разрешения задач, значение которых находится более в области прикладных, чем чисто научных, дисциплин.

В настоящее время я увяз в исследованиях яичного желтка. В связи с тем что остановилась королевская французская станция по рыборазведению в Гюнингене, вся здешняя продукция яиц лосося за эту зиму оказалась в моем распоряжении (за 9 крейцеров я купил недавно 3 фунта). И яичники более ранних стадий я получаю без затруднений: весьма интересный объект и в отношении превращений нуклеина. Поскольку проф. Гис одновременно работает по развитию яйца рыб, то микроскопические и химические контроли могут весьма эффективно дополнять друг друга.

И сперма рыб предоставляется мне в изобилии. Кроме того, я предполагаю заняться его мышцами и нервами.

Такова в основных чертах моя программа, о которой Вы теперь имеете представление. В отношении низших растений я поставил перед собой некоторые вопросы. Но в соответствии с Вашими пожеланиями пока не буду ими заниматься. Лишь в том случае я снова обращусь к этому делу, если позднее из Вашей следующей публикации или сообщения выяснится, что вырисовывающаяся передо мной задача не совпадает с той, над которой работаете Вы.

Хотелось бы обратиться к Вам с еще одной просьбой. Не могло бы Ваше дружеское посредничество способствовать моему вступлению в Берлинское химическое общество? Я не знаком ни с кем из берлинских химиков, но охотно получал бы их труды. Я, правда, не знаю, в какой степени нужно быть строгим специалистом, и хочу полагаться на Ваше суждение о том, не является ли моя просьба нескромной. Этим летом я

бо́льшую часть времени посвятил исследованиям в области теоретической химии.

С этим делом я все же совершенно не тороплюсь. Я знаю, что Вы иногда бываете в Берлине, и на этот случай высказал Вам свое желание. Прошу Вас быть заранее уверенным в моей признательности.

В заключение примите сердечные пожелания от совершенно преданного Вам д-ра Ф. Мишера.

ЛАБОРАТОРИЯ К. ЛЮДВИГА. 1869—1870 и 1894—1895. ПИСЬМА XVI—XXIV

XVI [1*]

[30 ноября 1869 г.] Вопросы, которыми я здесь должен заниматься, вводят меня в самую толщу экспериментальной физиологии частично благодаря моей собственной работе, частично за счет ассистирования в работе моих коллег. При этом в соответствующих обстоятельствах мне приходится осваивать и анатомическую технику (инъекции, препарирование нервов и т. д.). Коллектив здесь совсем иной, чем в Тюбингене. В специальном отделе Людвига работают лишь 6 человек (1 русский [2*], 1 американец, 1 берлинец, 1 норвежец и 2 швейцарца). Кроме того, несколько сотрудников работают у гистолога Швайгер-Зайделя и химика Хюфнера, каждый из которых опять-таки имеет в своем распоряжении ряд комнат. Отдел Людвига живет в известной степени замкнутой жизнью. Эксперименты я уже проводил совместно с американцем Боудичем [3*]. Кроме того, наблюдаешь за работой других, короче, я думаю, что получу известное представление обо всем деле. Людвиг лично проводит весь день со своими учениками и демонстрирует начинающим первые эксперименты, непрерывно при этом подшучивая. В 10 ч утра я слушаю лекцию Людвига по мышечной и нервной физиологии. Он преподносит материал медленно, ясно и просто, но всегда сохраняя живость изложения, не давая ни одного лишнего слова. В ходе лекции он сразу же все иллюстрирует экспериментами, причем даже не прерывая изложения. Институт устроен поистине великолепно, сплошь маленькие комнаты, где, однако, обычно работает лишь один человек. Газовая машина дает энергию для всего, что должно находиться в движении, а именно для аппаратов искусственного дыхания [4*].

XVII [5*]

[19 февраля 1870 г.] Тот, кто бросит взгляд на здешнюю лабораторию, вскоре заметит, что по большей части выполненные тут работы целиком и полностью являются произведением Людвига. Исследования, выполненные ассистентами и изредка кем-либо из старших сотрудников, могут быть самостоятельными. В остальном же я располагаю доста-

точным количеством примеров, показывающих, что Людвиг от первого до последнего разреза ножом или иного рабочего приема, от первого до последнего росчерка пера все сделал сам. Другой участник этой работы, например какой-либо русский или голландец, находился при этом, возможно, держал губку или полотенце, едва ли представлял себе, что же на самом деле происходит, а менее всего знал о замысле всего дела, позволял продиктовать себе в записную книжку некоторые цифры и после всего этого. бывал очень удивлен, увидав напечатанную только за своим именем прекрасную работу. Это — крайность, и в зависимости от зрелости и индивидуальности учеников можно наблюдать все переходы вплоть до известной степени самостоятельности. На этом Людвиг не наживает никакого капитала. Он сказал мне однажды, что таков его характер, что он охотнее всего работает вместе с другими, хотя он знает, что полностью и целиком проникнуть в глубину предмета удается лучше всего в одиночестве. Поэтому было такой большой удачей привлечение в самый хорошо оборудованный физиологический институт как раз этого человека, которого можно совершенно специально отметить как «учителя физиологов».

XVIII 6*

Что до моих занятий в институте, то я думаю, что достаточно освоил необходимые приемы при выкачивании и при принятых здесь анализах газов. Я постепенно прихожу к убеждению, что во многих выполненных здесь работах по газам крови имеют значение идеи Людвига и техническая работа, поскольку она требует сноровки лабораторного служителя Сальвенмозера. Как это получается, спросил я Сальвенмозера, что при сложнейших манипуляциях аппарат еще ни разу не сломался, хотя с ним работало так много народа. «Ну, знаете, я никого не подпускаю». Господа должны лишь стоять при этом в лайковых перчатках или же без оных, а затем сделать различные безопасные замеры и соответствующие расчеты.

XIX 7*

[2 апреля 1870 г.] Время пасхальных каникул будет для меня особенно плодотворным и ценным. Д-р. Ворм Мюллер из Норвегии хочет завершить исследование условий абсорбции кислорода кровью, в частности гематоглобином, в течение спокойного периода, когда можно располагать всеми помещениями и приборами. Он предложил мне, чтобы я ему помогал. Таким образом меня ввели бы во всю методику и ознакомили со всеми приемами в этой области исследования лучше, чем это когда-либо было бы возможно в течение семестра. И вот мы оба с утра до вечера заняты в газовой комнате, качаем насосом Людвига, выделяем различными способами гемоглобин, определяем кислород, азот, углекислоту по всем правилам искусства. В этих экспериментах совсем маленький недосмотр или неловкость могут тяжело отразиться на результатах.

XX [8*]

[20 декабря 1869 г.] Я бы все же легко утешился даже и тогда, если бы мои исследования не дали четкого результата. Эта зима, проведенная в Физиологическом институте, оказалась для меня чрезвычайно интересной. Поскольку мои мысли наполовину заняты совсем иным, я не могу с полным интересом обратиться к предмету исследования, хотя у меня дома и лежит целая кипа книг о спинном мозге и нервных волокнах, и я почти каждый день их читаю. Вообще меня, собственно говоря, вся эта физиология в том виде, как ее здесь изучают, не очень-то увлекает, сколь оправданной я бы ее ни признавал. Своеобразное, более эстетическое очарование, естественно, имеет и для меня красивое, гармонично построенное здание физиологии органов чувств, несмотря на то что почти всегда исследуются частные случаи до того, как удастся понять общую закономерность в ее простейшей форме. И вот зачастую второстепенные явления с легкостью рассматривают как главные... И физиологическая химия должна будет пойти по пути поисков разрешения главной проблемы химической динамики, а может быть, и принципа разнообразия растений и животных при наипростейших условиях внешней среды для живых организмов. Примечательно, насколько тесно переплетаются обе задачи — эмбриологическая и физиологическая. По существу, это единственные направления, цель которых в конечном итоге действительно заключается в том, чтобы привести учение об организмах в неразрывную связь с другими экспериментальными науками [9*].

XXI [10*]

[10 декабря 1969 г.] Недавно по поводу нового исследования водных органов чувств рыб у меня с Людвигом произошел спор, проливающий своеобразный свет на его позицию в целом. «Да, в сравнительной анатомии мы более не нуждаемся; это было хорошо, когда еще не решались думать даже о возможности механического анализа процессов. Безусловно, она имеет религиозный, нравственный интерес как основа метафизики, но не как основа физиологии, здесь она бесполезна». Я живо протестовал, и мы уже погрузились в довольно жаркий спор, который был прерван посетителями. Я все же не могу отказаться от того поучительного, что дает сравнительная анатомия для физиологии.

XXII [11*]

[Давос, 5 декабря 1894 г.] Мне кажется, что для великого физиолога... недоставало только точки на i, без которой нельзя ни рисовать, ни писать стихи, ни сочинять музыку, ни творчески научно работать. Это зернышко открытия, которым зачастую наделены и куда менее значительные личности...

Правда, пожилой господин из Лейпцига является другим эвристиком! Людвиг написал мне уже в начале октября в высшей степени дружеское,

полное сочувствия письмо, на которое я долго не мог ответить из-за наступившего ухудшения моего здоровья. Когда же я, наконец, ответил, я вскоре получил новое очень любезное письмо. Это сочувствие для меня тем более трогательно, потому что я хорошо сознаю, что зачастую работал не в духе моего прежнего учителя и своими работами в целом не доставил ему много радости.

XXIII

[Давос, 15 июня 1895 г.] Мне очень симпатична поставленная перед тобой задача написать речь памяти Людвига... Я бесконечно многим обязан Людвигу в методологическом плане, главным образом методической совестью, инстинктивным отвращением против любой грязной мазни, которая так легко укореняется именно в области вивисекции. Такое же благо получили сотни других людей. Но одного Людвиг не мог, да, пожалуй, и не хотел — воспитывать из незрелых людей самостоятельных научных индивидуальностей. Заблуждение о том, что достаточно освоить экспериментальные методы людвиговской лаборатории, чтобы стать самостоятельным ученым, наверняка, принесло многим тяжкие разочарования в жизни.

XXIV

[Давос, 6 августа 1895 г.] Для меня было большой радостью получить наконец-то текст твоей речи памяти Людвига, о которой ты мне уже давно сообщал. Я прочел ее три раза подряд... Исключительно одаренная личность Людвига настолько разностороння, что проникающие более глубоко наблюдатели могли бы написать 3—4 некролога, лишь незначительно повторяющие друг друга.

ПЕРВАЯ РАБОТА ПО СПЕРМЕ. 1871—1874. ПИСЬМА XXV—XXXVI

XXV [1]*

[Базель, 23 сентября 1871 г.] Сейчас я стараюсь использовать новый рыболовный сезон для того, чтобы поработать со спермой. Там содержатся колоссальные количества какого-то исключительно богатого фосфором вещества. Тот, кто хочет получить нуклеиновые тела центнерами, должен здесь собирать в ноябре зрелые молоки лосося. Эти работы, однако, не так уж легко проводить, как я это себе представлял вначале, каждый объект требует разработки совершенно особых методов, на что уходит много времени и материала.

В конечном результате я ожидаю от этих объектов исследования от-

крытий более общего значения, чем только в рамках физиологии спермы. Современное представление о сперматозоиде как полноценной клетке с преобладающим по массе ядром, по-видимому, очень хорошо совпадает с данными моих анализов. Я могу получать органы в любое время и на любой стадии созревания. Зрелый орган почти целиком состоит из сперматозоидов. Таким образом, мы здесь наблюдаем очень значительное осуществляющееся в течение всего лишь нескольких недель накопление ядерных веществ, которые, весьма вероятно, образуются на месте за счет ???[2*]. Почти весь химизм этого органа, очевидно, сосредоточен в этот период вокруг указанного процесса синтеза. Если существует где-либо место, позволяющее проследить химический процесс формирования ядра с его основными и дополнительными членами, то это именно здесь. Если Вы, например, представите себе возникновение ядра с помощью фосфорнокислых солей, то Вы поймете природу источника для образования свободных или связанных с горючими кислотами щелочных металлов, подобно тому как в других случаях окисление лецитина может служить причиной уменьшения щелочности. Я предполагаю, что изменения в химической взаимосвязи между белками и органическими основаниями принадлежат к числу самых существенных факторов, регулирующих формирование тканей. Химический круговорот фосфора, однако, необходим как побудительная причина такого рода изменений. Но я во всем этом деле со спермой продвинулся совсем не так уж далеко и даже не вижу еще впереди ясного пути. С публикацией результатов придется еще хорошенько подождать. Вам первому я рассказал обо всем этом.

XXVI[3*]

[Лето 1872 г.] Глубокоуважаемый господин профессор! Для меня самого полнейшая загадка, как могло произойти, что я не писал Вам вот уже почти полтора года.

Я ведь обязан был высказать Вам мою благодарность за пересылку оттисков и за то, что Вы так по-дружески представили публике мое еще столь несовершенное исследование. Я собирался далее при последующей работе в этом направлении сохранить связь с Вами; наиболее быстрое продвижение дела должно было обеспечиваться за счет разделения работы.

Я сдержал свое обещание лишь в том отношении, что после окончания лейпцигской работы непрерывно занимался нуклеиновой проблемой, насколько мне позволяли свободное время и внешние условия.

Но как только я собирался Вам написать об этом, всегда что-то мне мешало. Или я стеснялся того, что еще не провел по тому или иному вопросу соответствующих опытов или не была закончена какая-то операция, о результате которой я хотел Вас проинформировать, и таким-то путем дело и дотянулось до сегодняшнего дня.

После того как д-р Шмидт (узнавший об этих делах из конфиденциальной беседы) дал Вам понять, чем я теперь занимаюсь, мне уже

нельзя долее мешкать, хотя бы для того, чтобы выправить возможные ошибочные представления о состоянии этих исследований.

На основании Вашего ответа на мое последнее письмо я заключил, что Вы склонны заняться изучением химической природы нуклеина.

В связи с этим я совершенно не затронул в своих работах нуклеин из куриного яйца, на который тогда обратил Ваше внимание, я лишь как-то раз удостоверился в наличии серы.

В мою задачу я включил прежде всего работу над физиологическими взаимосвязями нуклеина, его распространением, способах связи, характере возникновения и разрушения, превращений в организме.

Я мог избрать изучение вширь, констатацию распространения нуклеиновых веществ в возможно более широком объеме материала или же более углубленное исследование, которое при работе с отдельными особенно удачными объектами могло бы способствовать более точным выводам и однозначным заключениям по имеющимся вопросам. Я предпочел последний вариант.

В первую очередь мое внимание приковало к себе яйцо. Я собрал материал от рыб, курицы и земноводных; для изучения химической статики развития в моем распоряжении имеется полная серия материала от лосося, начиная от незрелого яичника и вплоть до малька с почти резорбированным желточным мешком. В соответствии с совершенно определенными точками зрения были проведены анализы золы, определения количества лецитина и нуклеина. Во всяком случае, в зрелом яйце почти весь фосфор присутствует в органической связи и наряду с этим основания занимают самостоятельное положение.

Этот результат меня удовлетворил лишь частично, нуклеин неустойчив (содержащие фосфор органические вещества в жидкости после переваривания), количественные определения ненадежны. О составе интактных ядер желтка нельзя судить на основании столь грубых процедур.

Присутствие белков запутывает всю проблему.

Поэтому я был рад, когда обнаружил, что сперма представляет собой еще более простой для изучения объект. Некоторые гистологи используют ведь сперматозоидов как ядерные образования или как клетки, у которых количественно преобладает ядро.

Мне уже удалось получить чистые сперматозоиды лосося в большом количестве как из живого, так и из мертвого животного, а частично и непосредственно из самого семенника и соответствующей обработкой привести их в форму, требующуюся для исследования.

Сперматозоиды лосося можно рассматривать как одни лишь головки, поскольку канатик исключительно хрупкий и легко разрушается, а промежуточный отдел отсутствует.

Определение P в обезжиренных кипящим спиртом сперматозоидах дало 12,5% P_2O_5 при лишь незначительных следах неорганических оснований.

Как я позднее выяснил, Фрерихсу уже в 1852 г. было известно количественное содержание P в обезжиренной сперме. Почему тогда не подумали, что этот P содержится в ядре?

Я поэтому решил отложить изучение яйца и продолжить его лишь после того, как при изучении спермы будет достигнута более легкая и точная ориентация. С ноября прошлого года меня занимает только сперма.

Сперматозоиды содержат следы белка (слабая реакция Миллона), удается выделить очень мало синтонина.

Остаток состоит из не полностью нерастворимого в воде, спирте или эфире соединения двух новых веществ, которое расщепляется под действием разбавленных кислот на холоду и, следовательно, представляет собой соль.

1. Органическое основание. Выпадает в осадок из соляно-кислого раствора при добавлении PtCl, из азотнокислого — при добавлении $Hg(NO_3)_2$, под действием SH выделяется в виде солянокислой или азотнокислой соли. Двойная соль платины совершенно нерастворима в воде, спирте, эфире, устойчива (в сухом помещении не отдает хлор), выпадает в виде шариков. После двукратного осаждения не содержит фосфор.

Солянокислая и азотнокислая соли кристаллизуются в форме красивых, по-видимому, орторомбических (?) призм. Более точное кристаллографическое исследование будет проведено в ближайшем будущем. Маточники кристаллизуются до последней капли по тому же типу. Немногочисленные проведенные анализы до сего времени давали хорошие совпадения. Во всяком случае, речь идет об одном-единственном веществе, которое еще предстоит очистить от небольших примесей продуктов расщепления нуклеина.

Анализы двойной соли Pt указывают на совершенно необыкновенное вещество, относящееся к азотсодержащим продуктам обмена, но более сложное, чем известные до сих пор, и являющееся одним из звеньев, которые должны заполнить огромный пробел между мочевой кислотой и белком. Лишь малая часть N имеет основной характер. Отношение Pt к Cl точно такое, как описывает Унгер для двойной платиновой соли гуанина $PtCl_4$—ClH—N... Судя по этому, молекула должна была бы быть очень сложной и могла бы явиться представителем совершенно нового ряда промежуточных звеньев между белком и мочевой кислотой. Я предлагаю назвать это вещество протамином[4*].

2. Остаток, $^2/_3$ количества, представляющий собой не что иное, как ставший весьма нерастворимым нуклеин и следы белка, приобретает растворимость после стояния с разбавленным раствором едкого натрия на холоду и может быть после этого осажден HCl и очищен (растворимый нуклеин). Не содержит S, содержит 19% P_2O_5, 12,85% N. Определения С и Н еще недостаточно точно совпадают — 38,0 и 38,6%. Это, вероятно, самый чистый препарат из всех нуклеинов, полученных до сего времени, он не дает реакции Миллона, но не дает и ксантопротеиновой реакции. Работа с этим препаратом, однако, очень трудна из-за его нерастворимости, с одной стороны, и неустойчивости — с другой. Начатый опыт по расщеплению еще ожидает своего окончания. По-видимому, образуется фосфорсодержащая кислота наряду с пептоноподобными веществами.

Во всяком случае, этот препарат нуклеина уже по всему своему характеру является химическим индивидуумом, отличным от яичного нуклеина, и я стремлюсь узнать, по каким пунктам Ваши результаты отклоняются от моих, а в каких они совпадают. Ca-, Ba- и Zn-соли уже приготовлены, но еще не проанализированы.

Я считаю весьма вероятным, что, за исключением указанных выше веществ, ничего другого в существенных количествах в препарате не имеется. Поскольку это имеет решающее значение для теории оплодотворения, то провожу это дело сразу же с самого начала как можно более количественно.

Я располагаю одним соединением нуклеина в кристаллической форме, а именно реконструированным соединением с протамином, осадок имеет вид шариков, морфологически весьма напоминающих ядро. И этот осадок следует проанализировать и точно охарактеризовать микрохимически.

В последнее время я получил также возможность приготовить чистые сперматозоиды быка в небольших, но вполне пригодных для работы количествах.

Уже подготовлена сперма цыприноидных моллюсков, а к тому же еще нужно заняться лягушками.

Далее я имею указания, что это вещество встречается и в других тканях, мозге, гное. Отделение от белка происходит с большим трудом, но это все же, вероятно, удастся. В курином яйце он отсутствует!

Из всего того, что я Вам в этом письме доверительно сообщаю, Вы можете увидеть, что речь ни в коем случае не может идти о готовом для публикации деле.

Протамин я научился получать лишь в феврале, кристаллические растворимые соли — лишь несколько недель назад и еще далеко не закончил эту работу. Пока я не буду располагать достаточным числом совпадающих анализов, я ничего не могу выпустить из своих рук, чтобы это опять-таки не оказалось мазней. При существующем в лаборатории переполнении практикантами я могу располагать для аналитической работы временем лишь ночью и по воскресеньям. Помимо этого, у меня имеется много других дел и нагрузок.

Кроме того, состояние моего здоровья таково, что мне придется на каникулах, начинающихся с середины июля, уехать на пару недель.

Таким образом, Вы увидите первую чисто химическую заметку об этой работе, вероятно, не ранее чем в сентябре или в октябре в «Берлинских трудах» [5*]. В докладе, прочитанном в здешнем обществе естествоиспытателей, я касался главным образом структуры и ограничился лишь намеками на эти новые вещества. Возможно, я дам кое-что напечатать уже раньше в «Трудах», но это будет рассылаться лишь в виде отдельных оттисков.

Я предполагаю в особой статье рассмотреть во взаимосвязи химический, физиологический и гистологический аспекты этого вопроса, поскольку об условиях образования этих веществ, вероятно, также кое-что станет ясным при исследовании созревающего семенника рыб на различных стадиях. Микрохимическое наблюдение сложных ядерных об-

разований само по себе является опять-таки напряженной и требующей больших затрат времени работой.

Однако, я, даже рискуя тем, что меня кто-нибудь может опередить, придерживаюсь убеждения, что к решению подобного рода задачи сразу же нужно подходить как можно увереннее и с возможно более четкой физиологической ориентацией в той мере, насколько только позволяют методы и материал. Иначе будет лишь возникать путаница, если броситься со всех сторон на нежный зародыш. Если бы я теперь обнаружил нуклеин, то у меня бы его не вырвали из рук, как тогда.

По отношению к Вам я считаю себя обязанным сообщить о ходе дел, из-за задержки в публикации.

Работа по семенникам из Вашей лаборатории представляется для меня очень желательной. Я тогда могу не заниматься экстрактивными веществами. Для изучения спермы семенник млекопитающего является все-таки самым неблагоприятным объектом.

Как Вам живется в Страсбурге? Довольны ли Вы тамошними условиями работы?

XXVII [6*]

Глубокоуважаемый господин профессор!

[Эволена, 20 июля 1872 г.] Поскольку слишком большое количество работ помешало мне повидать Вас еще до середины июля в Страсбурге, то я по крайней мере выражу Вам в письменной форме мою сердечную благодарность за Вашу дружескую поддержку в деле моего здешнего служебного положения. О том, что я теперь принимаю ординатуру по физиологии, Вы, вероятно, уже слышали от проф. Иммермана.

В одном отношении мое теперешнее положение дает мне некоторое удовлетворение. Не зависящие от меня внешние обстоятельства могли бы привести к тому, что я вынужден был бы всецело ограничиться рамками физиологической химии. Но хотя мои специальные работы, по-видимому, в большинстве случаев преимущественно выполнялись с помощью химических методов, в теперешней моей педагогической деятельности я вижу приятный стимул для сохранения свободы взглядов и в более широкой области биологии в целом. О состоянии моих исследований могу дополнительно кое-что сообщить, возможно, интересное для Вас...

Что до нуклеина, то в моем самом чистом препарате найдено 12,3% N и 22,5% P.

Протамин и нуклеин могут связываться при разнообразных условиях. Из двух препаратов искусственных ядер, приготовленных мной, один из них (приготовленный в кислом растворе) довольно хорошо совпадал по составу с природными сперматозоидами, а другой был значительно богаче протамином (приготовлен в щелочном растворе).

По всей вероятности, нуклеин представляет собой многоосновную кислоту.

Что касается состава нуклеиновых веществ, то я, к моему удивлению, узнал через господ Шмидеберга и Гетгенса, что Вы до сего времени буд-

то бы еще не работали по нуклеину и выжидаете появления моих ближайших сообщений. Мне очень жаль, что, по Вашему мнению, по этому вопросу я всегда носился с ложными предположениями, иначе я не заставил бы Вас так долго ждать. Поэтому я опять приступил к опытам по расщеплению баритом с тем, чтобы в моем ближайшем сообщении иметь возможность что-либо дать о кислых фосфорсодержащих продуктах расщепления. Весь характер расщепления аналогичен таковому у альбуминоидного вещества, но получаемые пентоподобные (?) вещества имеют кислотную природу и содержат P.

Этими данными я Вам отнюдь не закрыл дорогу в том случае, если Вы хотите провести работу с другими нуклеиновыми веществами. Я думаю, что при изучении различных представителей этой группы веществ могут быть по ряду пунктов получены довольно сильно отклоняющиеся результаты. Вообще-то я подумываю о том, чтобы после приобретения уверенности в моих методах работы с нуклеином спермы поставить несколько опытов на яйцах и нуклеине яйца.

Впрочем, для меня остается загадкой, каким образом и когда получит свое завершение все это многозвенное исследование. Теперь мне нужно пустить в ход восемь лекционных часов в неделю. О проведении химических работ в предоставленном мне помещении, однако, не может быть и речи, здесь нет ни места, ни приспособлений. В химической лаборатории, где я насилу удерживаю уголочек, дело обстоит так, что для меня является поводом для праздника, когда между самыми разнообразными затруднениями — недостаток места, приборов и времени — мне удается вырвать возможность для хорошего анализа. Поэтому я вынужден, худо или хорошо, просить у Вас чуточку терпения. Я считаю себя обязанным прежде всего по возможности быстро провести чисто химическую часть дела, в особенности касательно нуклеина, и рассчитываю сделать главное наступление во время наших осенних каникул (с сентября до конца октября).

XXVIII [7*]

[Базель, 2 мая 1872 г.] Сперматозоиды, с которыми я работаю, после долгих скачков вкось и вкривь наконец стали вести себя хорошо. В эфирно-спиртовом экстракте найдены лецитин, холестерин и немного жира. Нерастворимый остаток содержит 12,5% P_2O_5. С помощью кислотной экстракции из него извлекается своеобразное новое вещество, составляющее приблизительно одну треть всей массы. Это вещество представляет собой органическое основание — алкалоид (протамин). Я имею хорошие кристаллы азотнокислой соли и двойной соли платины. Лишь четвертая или пятая часть N имеет основной характер, остальное входит в ксантин-гуаниноподобный комплекс атомов; дело в том, что кристаллы изумительно дают так называемую ксантиновую пробу с NO_2H и едким натром. Состав, по-видимому, довольно постоянен. Во всяком случае, он не идентичен с составом ни одного из известных веществ. По содержанию N это вещество располагается между гуанином и белком. Я уже сделал

полные анализы, но еще не рассчитал формулу, поскольку контрольные анализы еще находятся в работе. Выделение проходит хорошо, так как никакие другие вещества вообще не переходят в существенных количествах в кислый раствор.

Во всяком случае, это вещество, которое физиологически располагается позади мочевой кислоты и немного помогает заполнению большого пробела между N-содержащими продуктами обмена и белком. Я могу приготовить это вещество в колоссальных количествах, из одной пары молок лосося (200 г свежих) получается 10—15 г. Таким образом, мы впервые имеем доступный материал для изучения группы ксантина.

То, что никак не переходит в кислый раствор, несмотря на очень малое количество подлинного белка (слабая реакция Миллона), представляет собой нуклеиновое вещество, не включающее S, содержащее 19% P_2O_5, трудное в обработке, хотя я и получаю его в щелочном растворе, выделяю в виде соединений с Ca, Ba и Zn, с использованием которых я надеюсь выяснить молекулярный вес. Это вещество с трудом диффундирует, т. е. является крупной молекулой. Его элементный состав (определения углерода еще не дают хороших совпадений из-за технических трудностей в анализе) указывает на то, что какая-то очень близкая к белку молекула вступила в прочное соединение с P_2O_5. (Нуклеин гноя, яичный нуклеин и нуклеин спермы во всяком случае представляют собой различные вещества.)

Эти оба вещества в сперматозоидах связаны между собой. Головки сперматозоидов представляют собой просто соль нуклеиновокислого протамина. В них ведь никоим образом не проявляются свойства, которыми должна была обладать простая смесь этих двух веществ. Если нуклеин осаждают кислотами, то получают аморфный осадок.

Если же азотнокислый протамин смешивают с кислым раствором нуклеина, то получают осадок, состоящий из морфологических образований, блестящих шариков, обманчиво похожих на ядра яичного желтка, одним словом, искусственные ядерные образования. В зависимости от того, проводится ли осаждение в кислом или щелочном растворе, а также в зависимости от доминирования того или иного компонента эти образования обладают более сильным или более слабым светопреломлением, набуханием с мембраной или без оной, гиалиновым или зернистым помутнением. Временами наблюдаются даже вакуоли, похожие на ядрышки. Я еще не проследил дальше за этими процессами. Очевидно, что вещество сперматозоидов реконструируется. Во всяком случае, можно быть уверенным в том, что в возникновении морфологических первичных образований более значительную роль, чем это предполагали до сих пор, играет процесс кристаллизации. Я всегда думаю о том, что при соответствующих обстоятельствах, когда набухание и силы кристаллизации находятся в равновесии, должны возникать шарики.

Я определенно рассчитываю полностью выяснить состав головок сперматозоидов лосося. До сего времени все хорошо количественно совпадает, так что я могу сказать: если вообще химические события играют какую-либо роль при воспроизведении, то решающим фактором является теперь

уже известное нам вещество. Для меня это очень важно. Особенно подозрителен в этом отношении ксантиновый алкалоид. Он отсутствует в курином яйце, в то время как для всех химических компонентов спермы в яйце имеются идентичные или аналогичные вещества. Напротив, у меня имеются указания — еще не доказательства — о наличии этого вещества в клетках гноя, в ткани мозга (белое вещество).

Я чрезвычайно интересуюсь результатами этих опытов. Не окажется ли в конце концов, что нуклеиновокислый протамин (может быть, Вы знаете лучший термин?) или родственная ему, а следовательно, физиологически равноценная молекула является необходимым звеном активной организации при размножении клеток? [8*]

Что, если в представлении о яйце в противоположность обычной клетке в ряде факторов, определяющих активную организацию, недостает одного звена? Ведь в остальном все характерные для клетки вещества имеются в яйце. При созревании яйца его протамин разрушается с образованием N (состояние голодания, недостаточный приток крови), и в принципе интактный механизм останавливается из-за недостатка одного винтика. Сперматозоид в определенном пункте вновь вносит этот винтик и дополняет активную организацию. Больше от него ничего не требуется. С этого момента химико-физическое состояние покоя уже нарушено, машина снова начинает работать, каждая клетка вырабатывает протамин для снабжения соседних клеток и, таким образом, движение начинает распространяться по определенным законам.

Можете ли Вы представить себе принцип воспроизведения проще, чем особый случай всеобщего (хотя еще и загадочного) процесса формирования клеток. Уже благодаря своей простоте такое представление заслуживает внимания, если учесть что во всей живой природе осуществляется единый процесс.

Ведь все остальное стало бы понятным на основании закона роста Гиса. Результат оплодотворения мог бы зависеть:

а) от распределения свойств в неоплодотворенном зародыше;

б) от того места в яйце, где сперма наконец осуществляет свое действие, т. е. там, где она утрачивает подвижность.

Очевидно, что весь ход движения при развитии должен измениться, как только изменится само место, куда войдет винт. Исходя из таких соображений, следует еще проверить движение спермы. В каком направлении и насколько глубоко внедряются различные виды спермы в мягкие протоплазматические массы?

Таковы приблизительно те главные воздушные замки, построением которых я занимаюсь. Но я надеюсь со временем получить достаточно фактического материала для того, чтобы с достоверностью судить о том, содержат ли они какую-либо долю истины или же совершенно ошибочны.

Между прочим, я располагаю и другими видами спермы (бык, карп, щука, лягушка). У спермы быка я надеюсь изолировать также хвосты. Я совершенно забросил в этом деле морфологию (сравнение микроскопических картин с ядром и протоплазмой) с тех пор, как выяснил воз-

можность кристаллизации двойной платиновой соли протамина в виде форменных образований, которые зачастую обманчиво похожи на обработанные золотом сперматозоиды.

Прежде чем делать выводы из каждой оптической неоднородности в пределах какого-либо элементарного образования, мы должны знать, какие процессы происходят при кристаллизации одного и того же вещества.

Все эти вещи отнюдь не готовы для публикации и могут пройти еще многие месяцы, прежде чем что-либо появится в печати. Серьезная работа по сперме начата лишь с ноября прошлого года и к тому же ведется с большими перерывами.

Исследования яйца я совсем отложил в сторону. Сперма в силу своей большей простоты получила преимущество. Вопросы, касающиеся яиц, смогут, когда я вернусь к ним, быть поставлены значительно глубже и с большей заостренностью.

Но на этом я теперь закончу.

XXIX [9]*

[Базель, 29 января 1873 г.] При моих исследованиях в течение последних недель я столкнулся с несколькими любопытными неожиданностями. Прежде всего я не обнаружил в сперматозоидах быка протамин или другое равноценное ему основание, что заставило меня немедленно развенчать опять его пышное имя. Таким образом, совершенно злосчастный особый случай! Сперматозоиды рыб совсем чуточку участвуют в секреции мочевины. Далее оказалось, что «подобное нейрину» соединение платины, которое я принимал за продукт разложения, не содержит азота и имеет небольшой молекулярный вес. Во всяком случае, это не основание, а какое-либо другое загадочное вещество, скорее всего неорганической природы. Короче, хорошо, что имеется аналитический метод, который своевременно опрокидывает определенные воздушные замки. Нуклеин, напротив, оказался до сих пор постоянным: ему и его соединениям я с этого момента преимущественно отдам свой интерес.

XXX [10]*

[Базель, 20 сентября 1873 г.] В настоящее время я занят спермой быка (1,2% серы, 5,4% фосфорной кислоты). Значит, лецитин и нуклеин, наряду с этим белок и, вероятно, также кератин (или кутикулярные вещества). Кроме этого, немного кальция, связанного с органическими веществами. При переваривании моментально расщепляется связующий участок между головкой и хвостом, медленно отщепляется хвост и наконец высвобождается отдельная головка. Противоположность оболочки и содержимого выявляется и здесь, на головке, хотя и с большим трудом. Средняя часть является своего рода продолжением внутреннего пространства головки и связана с нею тонким и слабо преломляющим тяжем (каналом?). О составе хвоста я надеюсь хотя бы косвенным путем (содер-

жание серы и фосфора до и после переваривания) сделать определенные выводы.

Протамин здесь совершенно отсутствует, так же как у лягушки, карпа, и курицы. Я также не обнаруживаю его у почти взрослого семенника лосося (около 200 г), содержащего в огромных количествах многоядерные клетки, но еще неготовые сперматозоиды. Незрелая сперма лосося напоминает сперму карпа. До сих пор единственным постоянным фактором является нуклеин. Нет никаких указаний на присутствие веществ, могущих выполнять роль ферментов. Все имеющиеся до сих пор данные свидетельствуют о том, что ход дела определяется не грубым химическим сродством в сперме. Обнаруженные в сперме вещества чересчур различны и вместе с тем слишком устойчивы и нерастворимы.

XXXI [11*]

[Базель, 27 марта 1873 г.] Я теперь уже проанализировал и изолированные головки бычьих сперматозоидов. В целых сперматозоидах я нашел 5,2 и 5,4% фосфорной кислоты, в одних головках — 11,5%. Таким образом, хвост, а возможно, и содержимое головки не должны содержать фосфора и должны перевариваться. Вместе с тем в головках имеется также сера (в противоположность лососевым сперматозоидам), а следовательно, здесь нуклеин отличается от нуклеина лосося. Стало быть, важно, что очень различные формирующие ткани вещества вступают в более тесное соединение с фосфорной кислотой и таким образом приобретают определенную чеканку, а это имеет большее значение для их функции, нежели различия в характере самих органических веществ. Сперматозоиды лосося представляют собой кислую соль, что означает замещение основанием одного Н на каждый атом. Один Н замещается на атомную группу нуклеиновоподобного вещества, один Н — на протамин, третий Н, возможно, еще остается свободным, что допускает образование еще более основных солей. Я думаю, что эти вещи можно выяснить довольно четко, если располагать временем для того, чтобы их как следует довести до конца.

XXXII [12*]

[Базель, 1 июня 1873 г.] Моя история со спермой вновь пережила новую фазу. Выделенная при помощи пепсина головка (сперма быка) содержит 11% фосфора, 1,8% серы. Однако нуклеин, составляющий две трети головки, совершенно не содержит серы. Кроме того, из головки удается выделить немного альбумината (с 1,2% серы). Следовательно, должно присутствовать еще какое-то очень богатое серой вещество, вероятно, содержащее более 5% серы, также устойчивое к перевариванию. Таким образом, нечто совершенно новое и загадочное. Может быть, это внутренняя пластинка, и не раскрывается ли таким путем состав ядрышка? Теперь мне кажется подозрительным и содержание серы в ядрах гноя, и я как раз приступил к новой проверке этих данных. О хвосте,

напротив, я знаю теперь меньше, чем мне это раньше казалось, за исключением того, что он не содержит фосфора. Лишь путем точно скомбинированных количественных экспериментов можно будет узнать больше.

XXXIII [13*]

[Базель, 31 июля 1873 г.] В последнее время наряду с другими объектами я работал с ядрами гнойных клеток и выделил из них содержащий серу (2%) нуклеин с 8,5% фосфора, равно как и подобное параальбумину, но содержащее фосфор вещество. Вопрос еще не ясен. Затем я подготовился к изучению ядра куриного яйца с намерением решить, представляют ли они, подобно головкам сперматозоидов и ядрам гноя, закономерную организацию различных веществ или же просто скопления нуклеина. Протамин я теперь использую как агент для осаждения и очистки нуклеинов любого происхождения.

Кроме того, последние недели были заполнены поистине отчаянной борьбой с нуклеином. Я все же думаю, что наконец-то я с ним совладел. Действительно, я располагаю теперь надежным методом для изолирования. При помощи бариевого соединения я определил приблизительный атомный вес (500—600).

XXXIV [14*]

[Базель, 20 октября 1873 г.] Совместно с Б. Зигмундом я экспериментально определил реакцию совершенно свежей спермы быка. Она кислая даже в то время, когда еще бьется сердце и материал яичек имеет щелочную реакцию.

С ядрами желтка, вероятно, окажется, что они имеют сложное строение и не представляют только скопления нуклеина. Но в сравнении с истинными ядрами они несовершенны. С содержанием фосфора имеются огромные затруднения. Переваривание — это предательское средство, когда дело касается приготовления чистых препаратов. Оно вызывает легкий распад, так что получаются обедненные P Caput mortuum. Это обстоятельство, которое мне уже давно известно, столь сильно запутало также Ворма Мюллера. Лишь там, где, как в случае со спермой, удается избежать переваривания, можно было быть уверенным в своих данных.

При сборе материала я столкнулся с различными любопытными явлениями, имеющими отношение к проблеме развития. В большом количестве появляются фосфорсодержащие щелочные соли альбуминатов. Органы имеют сильнощелочную реакцию и не наблюдается никакой тенденции к подкислению. При соблюдении некоторой осторожности, вероятно, удастся непосредственно пронаблюдать процесс деления ядра и все связанное с ним на всех стадиях процесса.

XXXV [15*]

[Базель, 16 января 1874 г.] Уже в течение нескольких лет в моей голове постоянно вертится вопрос о делении клеток; я пока еще не знаю, каким образом и где легче всего подойти к этому вопросу. Главная при-

чина, во всяком случае, очень проста. Наиболее вероятным мне представляется, что таковой причиной является противоречие в условиях питания (или дыхания) между поверхностными и более глубокими областями клетки. Это противоречие возрастает с ростом клетки и в свою очередь влияет на ростовой процесс. В конце концов периферия клетки начинает расти быстрее, чем ее центральные части, и тем самым возникает причина для решающего изменения формы. Важное значение имело бы выяснение, скорее всего из экспериментальных наблюдений, наступает ли акт перешнуровывания и деления лишь как короткое, почти мгновенное побочное явление или же он осуществляется постепенно в соответствии с масштабом увеличения клетки. Лишь в последнем случае могло бы подтвердиться вышеназванное предположение. На первом этапе рост происходит чисто химически и заключается в переходе белка в особое агрегатное состояние протоплазмы. При этом, если все это не обман, истинным чародеем является тройная основность фосфорной кислоты. Все физические явления в этом процессе носят вторичный характер. Во всех этих вопросах натыкаешься, однако, на две преграды. Дело в том, что клетка располагает средствами, чтобы в соответствии с необходимостью расщеплять молекулы с поглощением воды и опять-таки объединять их с выделением воды. Последнее и играет главную роль при построении тканей. Но в этом случае органическая химия со всем ее высокомерием не может оказать никакой помощи. Ее реактивы разрушают все сразу. Там, где нужна тонкая работа часовщика, органическая химия предлагает лишь топор и кузнечный молот. Каким-то образом физиологи должны будут все-таки сами себе помочь.

Нуклеин лосося я получил до закрытия ворот еще совершенно чистым, т. е. неразложившимся (9,6% Р). Для достижения цели необходима возможно большая быстрота в работе и низкая температура. Когда нужно выделять нуклеин, я прихожу в лабораторию в 5 ч утра и работаю в нетопленном помещении. Ни один раствор не должен стоять более 5 мин, ни один осадок — более одного часа, пока весь материал не переведен в абсолютный спирт. Иногда работа затягивается до глубокой ночи. Таким путем я в конце концов добился совершенно постоянного содержания фосфора. Я надеюсь, что мне еще удастся на основании бариевых соединений установить молекулярную формулу. Во всяком случае, нуклеин представляет собой по крайней мере трехосновную кислоту. До сих пор эти данные примерно согласуются с формулой $C_{22}H_{32}N_4P_2O_{16}$ [16*]. Его состав, если даже исключить фосфорную кислоту, сильно отличается от состава белка и других компонентов тканей и чрезвычайно своеобразен. Ближе всего он подходит к анализированным еще Хюфнером ферментам. Но и эти ферменты благодаря содержанию серы и по ряду реакций ближе подходят к белкам. Ферменты могли бы быть промежуточной ступенью в образовании нуклеина.

В сперме нуклеин ненасыщен. Свежая сперма еще поглощает значительное количество протамина из нейтральных растворов. Эта остаточная основность как раз и насыщается щелочами. Вообще многоосновность нуклеина служит указанием на причину, почему ядро при различных

обстоятельствах может быть иногда более, иногда менее плотным или набухшим. Ведь возможны самые разные состояния химического равновесия.

XXXVI [17]*

[27 февраля 1874 г.] Я остаюсь при том мнении, что при подобных работах или не надо вообще говорить ничего, или же подавать все в виде взаимосвязанного целого. Заключения и выводы, описания и дедукция — ничто не может существовать по отдельности. Физиологическая химия состоит из такой кучи не связанных между собой фактов, что не имеет смысла еще больше засорять ее мелочами. В интересах моего здоровья было бы лучше, если бы откровенная радость по поводу отдельных обнаруженных фактов не утрачивалась мной, но я здесь действительно ничего не могу изменить.

ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ. 1875—1895. ПИСЬМА XXXVII—LXXXIII

XXXVII [1]*

[Базель, 25 августа 1875 г.] Вопрос о веществах соединительной ткани привлекает меня не из-за объекта исследования, а потому, что, обратившись к этой проблеме, я смогу расстаться с отдаленными, одинокими, побочными дорогами и вмешаться в широко обсуждаемые вопросы сегодняшнего дня. Следовало бы доказать справедливость того принципа, что главенствующую роль всегда играют глубокие химические свойства структуры какого-либо образования, к которым и нужно обращаться, в то время как все оптические характеристики, все реакции с благородными металлами имеют лишь относительную ценность в качестве аналогий с более детально изученными случаями, сведенными к той верховной инстанции. Я не думаю, чтобы в настоящее время оказалось очень полезным создать предварительную классификацию на основании растворимости веществ в различных реагентах. Насколько хватает моего опыта (особенно по нуклеину, муцину и т. д.), одни и те же внешние реакции могут быть связанными с веществами, исключительно различными по структуре, и опять-таки встречаются близкие по своей природе вещества, которые могут давать весьма неодинаковые реакции. Разнообразные, проанализированные до сего времени нуклеины по данным элементного анализа чрезвычайно различаются между собой, и эти различия выходят далеко за пределы возможных ошибок эксперимента. Вещества яйцевой оболочки (у рыб) и затылочной связки настолько химически различные тела, насколько вообще могут быть различны вещества, образующие ткани у животных. Но каковы эти химические различия, которым должно придаваться такое большое значение, и почему так поступают? Тканевая

химия Шлоссберга не содержит указаний, дающих возможность отличить существенное от несущественного. Единственное свидетельство, которым я располагаю, заключается в следующем: эксперименты различных авторов по обмену веществ показали, что ароматические и жирные (насыщенные) группы атомов при всех процессах превращаются неодинаковым путем. Последние сжигаются, первые нет. Во всяком случае, в организме никогда не возникает новая ароматическая атомная группировка. Вся выделяемая гиппуровая кислота получает свою бензойную кислоту каким-либо путем за счет пищи. Бензольное кольцо желчных кислот и тирозина происходит из белка. Таким образом создается возможность путем отделения образующих ткани веществ (А) с ароматическим ядром (белок, кератин, яйцевая оболочка рыб) от образующих ткани веществ (Б) без ароматического кольца (хондрин, глютин, эластин, муцин?) и в ряде случаев решить вопрос о существовании возможности или невозможности гистогенетического развития.

Вещества из группы А никогда не могут возникать из веществ группы Б, хотя процесс легко идет в обратном порядке. Дифференцирование групп могло бы легко осуществляться микрохимическими методами (миллонова реакция и т. д.).

Насколько же в клетках тела распространена способность к образованию истинных формирующих ткани веществ группы Б? Будут ли известные опорные вещества в дальнейшем отнесены к группе А, а продуцирующие их клетки к архибластическим?

То, что относится к группе А, могло бы, вероятно, вновь использоваться для построения протоплазмы (патологические разрастания клеток), но никогда эту роль не смогли бы выполнять вещества группы Б.

Почему столь многие насекомые питаются кератином перьев, шерстью и т. д. Но не существует высших животных, питающихся желатином.

XXXVIII [2*]

[Базель, 1 декабря 1895 г.] Генсен прав в том, что конъюгация и наблюдения Принсгейма плохо согласуются с физической теорией. Но я уже давно пришел к убеждению в необходимости обязательно отграничивать всеобщий принцип оплодотворения от результатов, имеющих специфический характер. Две клетки могли по каким-либо причинам развиваться односторонне и притом в различающихся направлениях, так что каждой из них недостает физиологической полноценности, условия для полной жизненной энергии. У яйца недостающим могло бы быть наделенное всеми способностями ядро, но мог бы быть и какой-либо иной молекулярный стимул движения (подобно маятнику часов), возможно даже, что недостает какого-то определенного вещества, вероятно, даже компонентов золы (как при прорастании растений, лишенных хлора и калия).

Если же встречаются друг с другом две такие односторонне развитые, сами по себе недостаточные клетки, причем в зависимости от степени дефицита может быть необходимым простой контакт или слияние,

то в итоге возникает полноценная клетка, жизненная энергия которой может даже превышать энергию такой клетки, все вегетативные функции которой находились в известном равновесии. В этом смысле, как я это представляю себе для животных, мы имеем дело с особым случаем, с деталью реализующегося процесса, когда в яйцеклетку, представляющую собой односторонне развитое протоплазматическое образование (во всяком случае, в той мере, как это касается условий для жизнеспособности), сперматозоид каким-то образом вносит жизнь для ядра; эту способность он получил при своем одностороннем развитии. Охотнее всего я бы занялся вопросом оплодотворения сначала на яйцеклетке. В чем заключается фундаментальное различие между яйцом и полноценно живущей клеткой? Почему яйцо химически и физически находится в состоянии покоя, подобно незаведенным часам? Изучение ферментов, восстановительной способности и т. д.

XXXIX [3*]

[Базель, 22 мая 1876 г.] С середины апреля я по уши погряз в работе с яйцом, в частности яйцом жабников. После того как лягушка оказалась недоступной, мне наконец удалось из многократно опороченной жерлянки выделить желточные пластинки из коричневатой жидкости раздавленных фолликулов в виде великолепного тяжелого порошка, несколько граммов из приблизительно 100 животных.

Я все больше начинаю понимать, что занятия химией яйца являются очень обширным делом. Если бы я в отчаянии не хватался бы за целый ряд положений и гипотез, сколь бы ни были они глупы, я бы вообще не имел понятия, как приступить к делу. Я рассматриваю яйцо в первую очередь как протоплазму, лишенную тех ферментов, за счет действия которых происходит непрерывное саморазрушение протоплазмы при отмирании, т. е. как интактную протоплазму. Я не обнаруживаю какого-либо химического различия между содержанием фолликулов у животного при жизни и спустя 8 ч после смерти. В соответствии с этим должно развиваться и исследование белковых веществ протоплазмы, в частности их взаимоотношений с компонентами золы. Все более увеличивается число указаний о том, что белки в действительности представляют собой довольно сильные кислоты и основания и лишь потому реагируют нейтрально, что включают оба свойства одновременно. Если смешать поваренную соль с сывороточным белком, то весьма вероятно, что в растворе обнаружатся хлорид белка, натриевая соль белка, белок — белок и т. д. Различные белковые вещества имеют неодинаковое сродство и даже нерастворимые не являются индифферентными. Условия диффузии расщепляют одни из этих соединений, не затрагивая другие. Короче, когда все эти явления будут основательно изучены в их взаимосвязи, то прольется яркий свет на возникновение и разрушение морфологических образований.

Напрасно я ищу, однако, какой-либо зацепки, чтобы ухватиться за процессы гидролиза и образования ангидридов (синтез фибрина, разжижение труднорастворимых тканей). Очевидно, дело каким-то образом

должно будет сводиться к тому, чтобы придать белковой химии в целом более теоретическое химическое направление. До сего времени, открывая главу о белковых веществах, мы всегда оказывались отброшенными в давно прошедшие времена, примерно на уровень органической химии Берцелиуса, настолько уютно здесь рядком разложены все реакции.

Однако, для того чтобы это стало осуществимым, следует более глубоко выяснить ведущие понятия современной химии в их основе в сравнении с тем, как это делается в обычных учебниках, что видно хотя бы на примере представленных там тривиальных жировых рядов и анилиновых красителей, и в частности необходимо совершенно точно понимать достоверность критериев их обоснования, поскольку мы продвигаемся в пределах пограничной области, где шаблон в какой-то момент может оказаться неподходящим.

Наряду с этим мы находимся в области слабого сродства, где концентрация, температура, давление газа, капиллярные свойства и другие влияют на устойчивость соединений. Самые ничтожные поверхностные силы могут, суммируясь, значительно усиливаться в случае таких малых масс. Наконец, только в химии животного организма, находящейся в настоящее время в своей начальной форме, в будущем будут сведены воедино все движущие нити этого лабильного химического равновесия. Короче говоря, сознавая, что, по существу, нужен был бы Сен-Готардский туннель, я пока что рою мышиную нору.

Наконец, меня больше всего интересует все же вопрос об отличиях неоплодотворенного яйца от активной клетки. Содержимое яйца жерлянки на самом деле представляет собой негустую жидкость, подобно коровьему молоку, но еще намного более текучую. И все же на яйце образуются борозды, что было бы невозможным без определенной консистенции. Не возникает ли в итоге благодаря оплодотворению в силу своего рода акта свертывания новый, не так легко растворимый белок, который и заслуживает быть названным протоплазмой?

XL [4*]

Глубокоуважаемый господин коллега!

[Базель, 15 июня 1876 г.] Возвратившись после каникул на Троице, я получил через младшего Шпейера важное для меня известие, за которое я Вам благодарен, а именно что дело с изданием Вашей физиологической химии, которую я и столь многие другие ожидаем с нетерпением, теперь быстро продвигается. Как мне сейчас стало известно, Вы предполагаете в первой, общей части Вашего труда упомянуть также нуклеин и его распространение и в связи с этим хотите получить сообщение о теперешнем состоянии моих исследований. Для меня самого, естественно, должно быть очень важно, чтобы как можно больше фактического материала о нуклеине было включено в Вашу книгу, и я лишь сожалею, что не был информирован заранее о плане Вашей книги и ходе ее издания, так как в этом случае мог бы на время отложить мои специальные увлечения и мою работу уже раньше проводить с учетом интереса к нуклеину.

К сожалению, мои гистохимические работы, после того как появилось предварительное сообщение о составе спермы, были почти совершенно прерваны на довольно продолжительное время, поскольку я не мог избежать возникшей передо мной необходимости направить все мои силы на ознакомление с физиологией и освоение моей педагогической деятельности; как мало удается сделать при химических работах, для которых лишь там и сям урываешь клочок времени, Вы понимаете лучше чем кто-либо. С прошлой зимы я постепенно несколько разгрузился и теперь опять нахожусь в старой колее. Больше всего я до настоящего времени занимался желточными пластинками и яйцами вообще, а в частности у жабников и акул. После того как я потерял много времени с неутешительной лягушкой, мне удалось в чистом виде выделить из яиц жерлянки и одного вида акул свободные от всех других ферментных элементов яйца желточные пластинки. Главная масса их представлена наряду с лецитином (около 20%) соединением белка с нуклеином, которое после полного растворения в HCl расщепляется пепсином (обезжиренные желточные пластинки, содержат 3,6% P_2O_5).

В остальном я поставил перед собой еще ряд вопросов по поводу яйца и его химических судеб, для ответа на которые потребуется еще довольно много времени. Прежде всего я бы хотел придать такой размах моим исследованиям нуклеина, который позволит мне составить предварительное заключение о роли этого вещества в клетке на различных стадиях ее развития.

Учитывая поэтому, что проведение исследования на яйцах и семенах должно будет растянуться на довольно продолжительный срок хотя бы потому, что получение материала зависит от времени года, и понимая всю сомнительность возможности выявить из разнообразия закономерностей у ряда животных общий принцип, я предполагаю, как только появится возможность, закончить небольшой обзор в вышеназванной области и опубликовать его. Обзор будет включать и сообщение о состоянии исследований по продуктам распада нуклеина. Последний пункт теснее связан, чем это можно было бы предполагать, со всем этим исследованием. Ведь во многих случаях мы можем судить о присутствии нуклеина по характерным продуктам его распада. Для меня было бы важным узнать, сможете ли Вы еще использовать сообщения о моих работах, которые я передам Вам в частном порядке лишь через несколько недель, и каков в этом отношении последний срок. Далее может иметь значение вопрос о том, появится ли раздел по специальной химии тканей уже теперь или лишь позднее. За информацию об этом деле я был бы Вам чрезвычайно благодарен.

XLI [5*]

Глубокоуважаемый господин коллега!

[25 июня 1876 г.] Разрешите прежде всего сердечно поблагодарить Вас за Ваше чрезвычайно интересное письмо от 19 марта, а также за присланный Вами ихтин, который явился для меня неожиданным сюр-

призом и который благополучно сюда прибыл. Имеется очень хорошее совпадение выделенного Вами вещества из яичника осетра с веществом, которое выделил я и которое подробно изучил, работая с яйцами жерлянки, и также получил из осажденного водой вителлина, а не только из целых пластинок нуклеин в значительных количествах; очевидно, что нуклеин находится в какой-то связи прочного характера (эфироподобная), а не просто в виде соли, как в соединении с протамином и другими основаниями, поскольку он высвобождается только после воздействия пепсина в течение определенного времени. Получение очищенного пепсина в этом случае наталкивается на те же трудности, как всегда, когда в основу очистки кладется обработка пепсином; дело в том, что при этом отщепляется немного фосфора, который переходит в переваривающуюся жидкость.

У меня прямо-таки слюнки потекли, когда я прочитал Ваш рассказ о прекрасном материале от осетра. К сожалению, до сих пор я еще не установил прямого контакта с Немецким и Балтийским морями, так что с подлинным ихтином Валансьена я познакомился только благодаря получению маленькой посылки с яйцами акул из Неаполя, а для того чтобы получить несколько граммов желточных пластинок, должен был принести в жертву целые гекатомбы жерлянок.

До настоящего времени я использовал мой материал главным образом для количественных анализов, определений жира, P и H в связи с микрохимическими реакциями с учетом определенных вопросов баланса веществ яйца при более поздних стадиях роста. Если Вы действительно не собираетесь работать дальше по ихтину, то я бы мог себе разрешить прежде всего провести аналогичные определения и на Вашем осетровом препарате, а затем поближе познакомиться и с его нуклеином. Проведение полноценной серии анализов пока еще затруднительно из-за нехватки времени, да с этим можно и не так сильно торопиться, принимая во внимание данные Валансьена и Фреми. Как Вы, вероятно, уже могли убедиться, ошибочно положение об отсутствии там серы. Я нашел совершенно нормальное содержание S, да и содержание P более постоянно, чем Вы, по-видимому, это допускаете, так что, очевидно, можно исключить высказываемое ранее подозрение о каком-то загрязнении (лецитин, зола?).

Вопрос о кристаллической природе пластинок продолжает меня беспокоить. Хотя я и допускаю, что силы кристаллизации играют известную роль при формировании, но все же бросается в глаза, что, судя по оптической характеристике пластинок, они в центре менее уплотнены, а судя по виду обезжиренных пластинок, они, вероятно, богаче лецитином. Не могут ли в конце концов пластинки расти путем интуссусепции, подобно тому как это происходит у крахмального зерна?

Что Вы предполагаете делать с номенклатурой этих P-содержащих вителлинов? Найденный Вами факт, что чистые гемоглобины в зависимости от вида характеризуются известными различиями не только по растворимости, но и по составу, я всегда воспринимал как принципиально весьма важное указание на необходимость осторожности при постули-

ровании полной идентичности аналогичных тканевых компонентов у различных животных. На самом деле то, что сообщают Валансьен и Фреми по поводу эмидина, который, судя по содержанию фосфора, наверняка относится к этой категории веществ, свидетельствует о его отличии от ихтина. Не было бы самым разумным установить группу нуклеоглобулинов, включающую такие виды веществ, как ихтин, эмидин и т. д.

Вы так любезны, что предлагаете мне опять воспользоваться материалом из имеющихся в Вашем распоряжении яичников атлантического осетра. Действительно, для меня могло бы оказаться, в частности, полезным, если бы я мог получить еще какое-то количество исходных желточных пластинок в случае, если таковые у Вас имеются, будь-то высушенные без разрушения или же сохраняемые в крепком спирте без удаления спирта. Далее меня могли бы интересовать непосредственно сырые яичники как таковые. Я бы смог тогда включить этот материал в мои количественные анализы.

Я с большим интересом узнал, что Вы теперь занимаетесь расщеплением нуклеина. В момент получения Вашего письма я как раз был занят приготовлениями к опыту по разложению соляной кислоты по методу Глазиветца, для чего особенно подходит полностью освобожденный от белка препарат спермы; этот опыт я все же проведу, а в отношении действия щелочей, напротив, буду прежде всего ожидать получения Ваших результатов.

В отношении состава нуклеина еще настоятельно необходимы волюметрические определения азота и повторные насыщения баритом, для того чтобы иметь возможность сделать заключения по поводу состава нуклеина на основании полученных данных. Первую группу анализов я, вероятно, еще смогу как-нибудь провести в ближайшее время, а вторую — с трудом, поскольку работать летом без ледника с чистым неразложившимся нуклеином спермы — это просто пустая трата времени.

В случае если Вы пожелаете расширить Вашу работу по баритному расщеплению также и на нуклеин спермы, то я бы попросил Вас мне об этом сообщить, я бы тогда приготовил для Вас несколько граммов нуклеина, по качеству хотя и непригодного для целей анализа, но годящегося для опытов по расщеплению.

В настоящий момент я, к сожалению, не располагаю каким-либо запасом материала сверх того, что должно быть использовано в ближайшие дни.

Особенно я благодарен Вам за сообщение о продвижении в подготовке Вашего учебника и буду всячески стараться, как можно быстрее, закончить выяснение некоторых вопросов, которые мне представляются интересными. Я с самого начала преследовал цель показать, что гистология, в том случае когда дело касается изучения самих структурных элементов, занимается не только их анатомической организацией, но должна быть далее углублена прежде всего на химической основе, и не только при помощи окрашивания золотом и осмием. Многое из того, что по малозначительным (оптическим) свойствам разделяют или объединяют в группы, химия должна классифицировать иначе и научить иному пони-

манию, и я не сомневаюсь в том, что в результате множество запутанных взаимоотношений со временем удастся упростить, а парадоксальные противоречия будут разрешены. Общественное мнение гистологов, однако, не проявляет никакой склонности к этим устремлениям; в самом деле, что такое (Кёлликерова «История развития», с. 50) [6*] химический элементный анализ в сравнении с отношением к осмиевой кислоте? Таким образом, должна быть пробита своего рода брешь, и поэтому я считаю столь важным, что, когда эти данные по химии клетки в первый раз будут представлены широкой публике в Вашем учебнике, Вы по крайней мере можете считать, что в достаточной степени достигли взаимосвязанности и полноты материала, чтобы в принципе предпринять какие-то дальнейшие действия.

Прежде всего я бы хотел на ряде соответственно избранных растительных и животных объектов получить доказательство действительной и специфической принадлежности нуклеина в жизнедеятельности ядра. Это не такая уж простая задача, поскольку нуклеин может, например, встречаться в растворимой форме или в виде соединений, которые не дадут возможности отклонить происхождение его из протоплазмы, но и в этом случае он может представлять строительный материал для вновь формирующихся ядер. Далее должна быть наконец проведена серия опытов для выяснения более точных взаимоотношений между лецитином и нуклеином — эта работа уже давно находится на моей совести.

И в работе со спермой предстоит еще разделаться со многими вопросами. Короче, вы видите, сколь много мне еще нужно сделать; к сожалению, у меня нет подходящих практикантов, на которых я мог бы что-нибудь перегрузить, и я не смог никого принять.

XLII [7*]

[Базель, 29 июня 1876 г.] И теперь о желточных пластинках, где я располагаю некоторыми цифрами. Чистые пластинки от Bombinator [8*] содержат на сухой вес 16,6% веществ, переходящих в эфирный экстракт, из которых $^3/_5$ составляет лецитин. Остаток, еще сохраняющий полностью форму и светопреломление, содержит 3,4% фосфорной кислоты и представляет собой химическое соединение нуклеина с веществом глобулиновой природы. Соединение дает реакции, свойственные вителлину, растворяется в соляной кислоте и расщепляется в результате длительного воздействия пепсина. Я получил большие количества нуклеина не только из желточных пластинок, но также из вителлина, который был осажден из его прозрачного раствора в поваренной соли. При известных обстоятельствах, по-видимому, может действовать и фермент, осуществляющий такое расщепление. По крайней мере, яичники зимних лягушек дают кислый водный экстракт, в котором в огромных количествах содержится вещество с реакциями миозина, в то время как желточные пластинки сильно нарушены, но лишь частично растворены. Это вещество, однако, бедно фосфором, и из него я не смог получить нуклеин.

Обезжиренные пластинки акул содержат 2,5% фосфорной кислоты.

Малое количество нуклеина, однако, компенсируется присутствием нуклеиновых шаров, как в курином яйце.

Яйцо жерлянки, в свою очередь, особенно выделяется тем, что не содержит почти ничего, кроме пластинок и нескольких капель жира. Уже это обстоятельство свидетельствует о том, что пластинки не являются каким-либо частным включением, а должны содержать материал для формирования клеток в целом (возможно, независимо от тех или иных солевых компонентов). И это действительно так. Пластинки содержат также золу, что известно уже из работ Валансьена и Фреми.

По современным представлениям, пластинки следовало бы рассматривать как химические индивиды [9*], как кристаллы и жир (лецитин), находящиеся в соединении с белком. Мои опыты будут направлены на проверку этого положения. Против химической индивидуальности говорит, например, то обстоятельство, что акульи пластинки после обезжиривания часто оказываются сжатыми в центре, а иногда приобретают даже внутренние полости, что служит указанием на то, что они либо внутри богаче жирами или же менее плотны (более обогащены водой), чем во внешних слоях. Последнее могло бы способствовать опровержению учения о кристаллической природе в духе Радлькофера, и осталось бы образование примерно такого рода, как крахмальное зерно (Негели).

Что ты скажешь по поводу того, что я проработал два месяца для выяснения этой пары пустяков по будням и воскресеньям каждый день по 8—10 ч почти исключительно занимаясь этими вопросами. Такое определение жира с анализами экстракта и остатка является предприятием, которое занимает приблизительно 40 ч тяжелой работы. К тому же это механическая работа; чем меньше при этом творческой деятельности, чем меньше задумываешься о значении своей работы, тем лучше она удается.

Имея возможность воспользоваться свежей лягушачьей икрой, я немного занялся микрохимией дробления и надеюсь вскоре продолжить эти опыты. Факт состоит в том, что даже при умеренных скоростях дробления мы имеем протоплазму из шаров дробления, химически отличную от неоплодотворенного яйца, нерастворимую в поваренной соли, растворимую в соляной кислоте, т. е. белковое тело, которое полностью отсутствует в яичнике или яйцеводе. Что если действительно в основе первичного изменения яйца лежит своего рода процесс свертывания, лишь вследствие которого возникает протоплазма?

XLIII [10*]

[Базель, 17 сентября 1876 г.] Для меня все же наилучший отдых во время каникул заключается в том, чтобы вот так день за днем без помех заниматься своими делами и иметь возможность для размышлений, вместо того чтобы непрерывно пережевывать совершенно далекие для меня ряды гипотез. Поскольку теперь семенники лосося находятся в стадии многоядерных клеток, то я оставил яйца на пару недель на холоду. Я решил с максимальной точностью все отмикроскопировать и лишь на этом основании сформулировать свои позиции в части химии. То, что я

до сих пор извлек из всего этого, заключается в следующем: период роста органа начинается со значительного вторжения лейкоцитов (?), которые содержат много жира и, как это кажется, очень склонны к распаду. На следующем этапе, когда число лейкоцитов уже сильно снизилось (за счет их же самих?), развитие образующих нуклеин клеток достигает своего апогея. Химически эти клетки чрезвычайно отличаются от лейкоцитов и в генетическом отношении не находятся в прямом соотношении с ними. Протоплазма этих клеток в противоположность лейкоцитам набухает в воде в гель, уплотняется под действием 10%-ного раствора поваренной соли и т. д. В конце концов процесс завершается образованием знакомых, плотно набитых ядрами округлых клеток. Потом и они сходят со сцены, причем их ядра, вероятно, растворяются (?). Находят бледные промежуточные картины. Независимо от них в особых бледных неправильной формы протоплазматических образованиях, взаимоотношения которых мне неясны, возникают головки сперматозоидов, сначала совсем маленькие, рудиментарные, хорошо узнаваемые. Таким образом, становится вероятной правота Эбнера и Нейманна. Этот процесс своевременной смены трех клеточных генераций меня особенно интересует и дает направление и для моих химических исследований: 1. Лейкоциты — всеобщий поставщик сырого материала. 2. Клетки семенников — фабрика нуклеина. 3. Сперматобласты, механики в собственном смысле этого слова, которые из готового материала просто строят аппарат сперматозоидов. Орган достигает своего полного зрелого веса в некоторых случаях еще до того, как появляется хоть один сперматозоид.

Поскольку все стадии осуществляются в течение приблизительно 4 нед, то приходится немало поломать голову, для того чтобы всегда находиться в полной готовности для проведения химического исследования, поскольку все, что желательно обнаружить, должно быть предварительно предусмотрено и предположено. Но, скажите на милость, что здесь все же можно предположить?

Наряду с этим я начал расщепление нуклеина, а также выделил в кристаллической форме в довольно значительном количестве какое-то еще непонятное для меня соединение.

XLIV [11*]

[Базель, 10 октября 1876 г.] В первый раз со времени 1874 г. я в таком состоянии, что могу надеяться не совсем выбиться из седла за этот семестр. В целом подтвердился и тот результат, о котором я уже коротко сообщил тебе в прошлом письме. Мне даже удалось из сперматозоидов первой стадии развития получить специфический нуклеин гноя в достаточном для анализа количестве. Значит, не лейкоциты дают окончательный ядерный материал. Круглые клетки семенников II, напротив, содержат истинный нуклеин спермы, и на самом деле структура такова: протоплазма представляет собой альбуминат калия, полностью сходный с таковым Либеркюна, нерастворимый в растворе поваренной соли, растворимый в воде, но нерастворимый после подкисления. Ядра представляют

собой слабо преломляющие свет капельки еще неизвестного вещества, не полностью покрытые желудеобразной оболочкой, состоящей из соли нуклеина со щелочными металлами. Это вещество также растворимо в воде, но нерастворимо, если предварительно подкислить. Эти ядра растворяются, наблюдаются безъядерные пузырьки, которые содержат распределенный в протоплазме нуклеин, что несвойственно исходным клеткам. Со сперматозоидами я в общем-то пока в основном терплю поражения. Все обычные методы изолирования оказались непригодными и тем временем прошли нужные стадии. Во всяком случае, это какие-то пристеночные образования на тонких ножках.

Своеобразно вела себя кровь. Стадии I и III, по-видимому, идут на фоне изобилия крови, между ними лежит бескровная стадия, включенная в момент апогея формирования ядра. Процесс собственно разрастания соединительных тканей с новообразованием сосудов, так что перегородки врастают в каналы, отчетливо наблюдается только в начале стадии III, когда необходимо подводить питательные вещества спермабластам. При этом происходит и уплотнение консистенции, которая раньше была слизистой.

Моя задача теперь состоит в том, чтобы найти предшественника нуклеина, какой-либо белок с прочносвязанной фосфорной кислотой или что-нибудь в этом роде, поскольку мне представляется слишком большим скачок прямо к нуклеину. Не могла ли капелька, образующая основную субстанцию ядер II служить нуклеогенным материалом? Такое формирующееся ядро со своей нуклеиновой оболочкой в конечном итоге и представляет собой центральный пронуклеус ван Бенедена с его прилегающим с одной стороны чашевидным образованием в форме комка. Ядра лейкоцитов, напротив, имеют совершенно иную форму и отличаются по своим реакциям (пузыревидные, устойчивые к воде и т. д.).

Так как многоядерные гигантские клетки я всегда обнаруживал в очень бедных кровью органах, то я задал себе вопрос, не относится ли вообще эта склонность к образованию многоядерных гигантских клеток к категории явлений, вызываемых в клетках недостатком кислорода (или клеточной уремии?), т. е. не имеет ли здесь значение в качестве основной причины недостаточный обмен между кровью и тканью. Можно представить себе эксперименты, позволяющие превратить остеобласты в остеокласты путем уменьшения притока крови.

Обоюдное пожирание клеток, по-видимому, представляет своего рода акт переваривания, по крайней мере в одном случае (в стадии II) я обнаружил довольно много пептона. Я, в самом деле, думаю, что последовательное изучение этих семенников может развернуться в своеобразную ключевину к известным вопросам внутренней жизни клетки, но штурмом этого достичь нельзя.

XLV [12*]

[Базель, 24 октября 1876 г.] Нужны известные способности хотя бы для того, чтобы разглядеть лежащее между самим собой и духовным достижением высшего порядка, за которым человек гонится, бесконечное

море противных и однообразных подробных работ и все же переплыть его. Правда, существуют детализирующие работы, доставляющие удовольствие. Так, для приспособленной в этом смысле головы разработка методов совершенно независимо от последних вопросов приобретает прелесть подлинного спорта... «Удастся ли мне это преодолеть, черт побери!» — так обращается Людвиг к своему газовому насосу, Бунзен к своему фотометру или колориметру.

Микроскопист же или морфолог вообще ведут, во всяком случае при некоторых темах, при своем каждодневном новом материале для наблюдения жизнь настоящих господ в сравнении с газовыми анализами или шаблонными массовыми промерами кровяного давления. Какое это лишение для ученого на многие месяцы превратиться в чисто заводского рабочего, пока, может быть, несколько цифр снова дадут основание для скромных упражнений мысли, но об этом не имеют понятия философы, историки, эстетики и другие духовные сибариты. Существует так много людей, воображающих себя великими, похваляющихся своей начитанностью, своими научными исследованиями, но не знающих о том, как много во всех их занятиях и писаниях составляет просто духовное наслаждение и как мало в них истинного творчества. Даже если хватает сухой литературной работы, то при этом всегда участвует и духовная деятельность, и в результате может сам по себе развиться интерес к подробностям.

Я сам, пожалуй, еще более, чем Вы, занят в стадии механической работы. Куда бы я ни посмотрел, передо мной возвышается гора количественных анализов, которые представляют единственное обоснование для дальнейшей работы... Снова и снова я задаю себе вопрос, нельзя ли подойти к этому делу каким-либо иным путем с помощью гистохимии, но опять-таки прихожу к моим определениям фосфора, жира и другим, как необходимому страхованию против микроскопических артефактов. И при этом нужно было бы иметь 20 рук, чтобы успевать справиться до его разложения с неравномерно поступающим материалом, приток которого зависит от внешних обстоятельств. Однако я не выпущу из рук кирку, пока не удостоверюсь, работаю ли я с пустой породой или же с содержащей руду, хотя и в виде вкрапленной в кварц жилы.

Главный результат моей весенней работы заключается в понимании природы желточных пластинок. Они содержат связанный с нуклеином белок, пропитанный лецитином, по существу равноценный клетке в целом в химическом смысле, но уже не морфологически. Теперь я гонюсь за развитием ядра в семеннике лосося и встречусь непременно с чрезвычайно интересными фактами, которые, в частности, будут иметь значение и для патологоанатома. Такой вот семенник увеличивается без того, что животное питается, за три месяца с 2 до 100 г, сначала за счет гистиоцитов, количество которых по временам так велико, что я смог выделить из них специфический нуклеин гноя, который отличается от нуклеина спермы. Потом развиваются, хотя сперва не наблюдается ни следа смерматозоидов, знакомые округлые клетки семенников с огромным числом ядер, которыми полностью заполнены клетки. Эти клетки представляют собой химическую фабрику, где производится нуклеин, и притом свободный от

серы нуклеин спермы, отлагающейся в определенном порядке в ядрах в форме металлической соли нуклеиновой кислоты. После этого ядра растворяются и наблюдаются только простые шары, в которых обнаруживается распределенный в протоплазме нуклеин. Лишь после того, как орган почти достигает своего полного объема, начинается за счет образованного материала и при его исчезновении развитие собственно сперматозоидов, во всяком случае в особых пристеночных образованиях (сперматобластах Эбнера, Нейманна и т. д.), о поведении которых я пока могу еще мало что сообщить. Таким образом, мы имеем три генерации клеток, которые возникают друг от друга в химической, но не морфологической последовательности. Такой тип генетической зависимости клеток друг от друга, когда одна форма является химическим условием, питательным субстратом для другой (паразитизм) наверняка во многих случаях была подменена учеными другой формой. О том, что мое толкование правильно, свидетельствуют не только морфологические, но также и сильные химические различия между лейкоцитами, сперматобластами и округлыми семенниковыми клетками как в ядре, так и в протоплазме.

Этот пример при наличии таких точных способов доказательства, как это, вероятно, редко бывает возможным, может показать, на сколь непрочных основах покоятся обычные гистогенетические аргументации, исходящие из факта соседствования клеток. Одновременно эти способы доказательства служат указанием на то, что единственным выходом является применение не микрохимических методов окрашивания, а основанной на характерных реакциях микрохимии.

XLVI [13*]

[22 декабря 1876 г.] На время нереста опять занялся икринками лосося. Мне хотелось бы получить материал как по балансу движения веществ, так и по яйцу как таковому. Мне удалось получить пару яичников, еще интактных, но не совершенно зрелых и очень большого размера (например, от животных по 23 фунта — оварии весом 6,5 фунтов). Последние с 35—40% обезвоженного материала, в то время как мускулатура имеет лишь 15—20%. Нескольких лососей я уже взвесил, а также измерил и сделал зарисовки мускулатуры на срезах в совершенно определенных местах. А сейчас в работе находятся анализы на сухой вес, фосфор и жир соответствующих яичников. Позднее мы будем разыскивать поднимающиеся вверх по Рейну неполовозрелые, упитанные экземпляры такой же длины для того, чтобы их взвесить и обмерить. До сего времени я почти не вижу другой возможности для происхождения белковых веществ, как периваскулярная и иные лимфоидные ткани всего тела.

XLVII [14*]

[Базель, 22 декабря 1876 г.] Сегодня я включил в работу и куриные яйца. Не окажется ли в конце концов, что это супружество между протоплазмой и ядром представляет самое существенное в химии яйца и в нем кроется причина жизненной паузы. Все эти желтки, а также прозрачная жидкость икринки лосося уже в свежем и неоплодотворенном состоянии

дают отчетливо кислую реакцию. Зола кислого водного экстракта, однако, имеет щелочную реакцию, что указывает на присутствие органической кислоты.

Сначала я хочу только выделить компоненты протоплазмы икринки лосося, что можно осуществить с помощью 1%-ного раствора поваренной соли. Пристеночная протоплазма, несмотря на свою вязкотекучесть, химически довольно устойчивая система. Бледные шары остаются в виде свободного или связанного с металлами нуклеина. Здесь не наступило образование вителлина.

Прозрачная жидкость яичного желтка представляет собой не что иное, как разжижившиеся желточные пластинки именно с тем количеством поваренной соли, фосфорнокислых и молочнокислых солей, которые требуются для растворения. Прозрачный солянокислый раствор можно в течение нескольких дней нагревать до 40°, и при этом ничего не случается. Если же добавляют пепсин, то выпадает обильный осадок нуклеина. С количеством приготовленного мной этого вителлина почти нет возможности справиться.

XLVIII [15*]

[Базель, 22 декабря 1876 г.] Кстати, обратил ли ты внимание на красивые работы Кюне и Эвальда о панкреатическом переваривании вещества мозга и о кератиновой оболочке осевого цилиндра? Это бы вполне соответствовало моим ожиданиям. Это опять-таки опора достоверности. О всеобщей биохимической идее, которая заложена в этом деле, еще никто не догадался. Фундаментальное свойство архибластических клеток состоит в том, чтобы продуцировать не совсем чуждые белку секреты, которые необратимо разделяют протоплазмы и прекращают интимный молекулярный контакт, без которого невозможны высшие функции животных. Соединительная ткань — это шаг вперед в сравнении с растением. Однако хватит об этих фантазиях.

XLIX [16*]

[Базель, 4 марта 1877 г.] То, что ты говоришь о противоречии внешних и внутренних слоев в отношении питания, попало в самое больное место. С нового года эти идеи постоянно мешают всем моим другим занятиям, включая сон. Мне кажется, что это началось с письма Бема, где он говорил о том, что сахар в моче появляется главным образом в качестве спутника асфиктических состояний, как своего рода рефлекторный процесс. Не может ли это в конце концов быть аналогично такому явлению, как поведение дрожжевой клетки, которая при доступе кислорода главным образом растет, почкуется и таким образом находится в состоянии синтетической ангидридобразующей деятельности, но которая при недостатке кислорода бродит и расщепляет и притом не только сахар, но и свои собственные вещества (формирование вакуолей, образование лейцина и т. д.). Подобное наблюдается у всех низших организмов.

Если бы оказался справедливым всеобщий органический закон о том, что в случае апноэ (избыток кислорода) преобладает синтетическая деятельность протоплазмы, образование различного рода ангидридов, а во внутренних слоях, где напряжение кислорода равно нулю,— диастатическая, пептонобразующая разжижающая гидролитическая активность, тогда был бы найден ключ к пониманию клеточного роста и клеточного деления. Представим себе нуждающийся в кислороде комок протоплазмы, в котором благодаря энергии использования веществ во внешних слоях кислород не проникает во внутренние слои, и здесь будет происходить самопереваривание. Наружный синтетически активный слой резорбирует, однако, образовавшийся пептон и растет за его счет. Тогда должны были бы появиться складки и впячивания. И в случае ядра поступление газов может иметь влияние на превращение ядра в форму растворимого соединения, вступающего в связь с белком.

В качестве параметра, характеризующего величину клеток, в первую очередь следовало бы принять энергию их обмена веществ, зависящую от раздражений, а во вторую — внешние условия подвода газов. Яйцо становится большим потому, что оно было лишено раздражений и раздражимости, и на протяжении всей своей массы становится апноэтическим, следствием чего опять-таки является превращение всего нуклеина в нуклеоальбумин в результате синтетической деятельности и невозможно обнаружить ни следа пептонов, которые обычно всегда присутствуют.

В последнее время мне показалось в высшей степени примечательным, что при взгляде сквозь эти очки на все те вещи, которые оказались в поле моего зрения, в них обнаруживалась какая-нибудь щелочка, сквозь которую пробивался луч света. Так, например, диабет: печень и так уже в отношении доставки кислорода получает половинное содержание, в результате чего ничтожнейшие вазомоторные изменения могут привести к тому, что чаша весов будет склоняться то в сторону разрушения гликогена, то в сторону его образования. И не ускорение циркуляции, как это думают современные физиологи, а ее замедление является тем фактором, который вызывает появление сахара в моче. Можно себе достаточно хорошо представить, что состояние возбуждения столь зависящего от газов крови вазомоторного центра тончайшим образом регулирует витальную гликогению. По мере того как возрастает сердечная деятельность и частота дыхания при потребляющей кислород мышечной активности, происходит уменьшение кровотока в печени.

Далее ничто не может быть проще, чем принцип причинности в организме животного и растения. Каждая компактная масса клеток должна сама себя переваривать внутри. Кровяные сосуды наполняются (например, у оболочки зародыша, когда происходит соприкосновение с голодающими по кислороду клетками архибласта) не как причина, а как следствие возрастающего превращения веществ.

Ты, вероятно, знаком с загадочными, до сих пор занимающими совершенно изолированное положение данными П. Бера о том, что повышенное давление кислорода подавляет и совершенно уничтожает окислительные процессы, прорастание семян и т. д. Это в точности под-

ходит, потому что, как только внешние слои более не в состоянии защищать внутренние от контакта с кислородом, отпадает указанное противоречие, необходимое для существа процессов жизнедеятельности. Кроме того, очевидно, что расщепление является первичным при всех процессах разложения, с которыми связаны функции животного организма. И здесь также имеется позиция, в первую очередь нуждающаяся в экспериментальном подходе. Как ведет себя клеточный рост, выделение, формирование сосудов и т. д. у апноэтичных куриных яиц, семян растений и т. д.

Противоположность эктодермы и энтодермы будет слагаться из различных моментов.

1. Бóльшая раздражимость, бóльшая энергия потребности в кислороде в эктодерме: поэтому ceteris paribus более частое деление на меньшие клетки.

2. Эндотерма, напротив, более отдалена от кислорода, преимущественно склонна к образованию переваривающих ферментов и таким образом служит источником включения процессов распада, в результате которых клетки желтка превращаются сначала в вещества клетки. Например, необходимо переваривание для того, чтобы нуклеоальбумины, в которых я все более вижу подлинную основу желтков всех яиц, расщепить на белок и нуклеин.

В чем состоит отличие остеобластов от остеокластов? Если лишить остеобласты большей части поступающей к ним крови, то можно получить клетки с малой тенденцией к делению и увеличенной склонностью к образованию фермента, с помощью которого они переваривают кость.

Переваривать способно также и каждое бесцветное кровяное тельце, которое прижалось к стенке сосуда, эндотелиальной оболочке и уплощилось. Таким образом формируются перехваты (перехваты Ранвье) и, возможно, также и выхождения.

Неспроста переваривающие железы в состоянии покоя поставлены в условия полузадушенности (черная венозная кровь) в противоположность мозгу и т. д. Именно в этом состоянии покоя они образуют свои ферменты и накапливают их. При секреции они разжижаются, и как раз в периоде хорошего кровоснабжения образуется новая протоплазма.

Все учение о вазомоторном аппарате страдает, собственно говоря, тем недостатком, что независимо от экстремальных случаев (истинный дефицит кислорода) нет ясности в вопросе о значении более тонких градаций поступления крови, поскольку в целом клетка все же регулирует приток кислорода и венозная кровь еще содержит довольно много кислорода. Но если моя точка зрения справедлива, то зависимость клетки, ее функций, ее химизма, ее процессов созидания и т. д. от напряжения кислорода представляет собой лабильное равновесие, по чувствительности сравнимое с магнитной иглой в мультипликаторе.

Что ты собственно скажешь по поводу всех этих историй? Публикация каких-либо мыслей такого рода без фактов неприятна мне сегодня так же сильно, как и публикация в 1871 г. доклада о дыхании (публикация которого тогда, впрочем, и не состоялась главным образом из-за того, что я вскоре несколько изменил свои взгляды по некоторым основным

пунктам). Гораздо охотнее я бы воспользовался ею как волшебной палочкой для поисков фактов. Выявление нескольких такого рода фактов позволило бы признать своевременной эту идею и воспользоваться ею как надежным ключом для исследования. Правда, я вечно не буду поспевать с моими наблюдениями за идеями, и в конце концов их плоды будут пожинать другие.

L [17*]

[Базель, 6 мая 1878 г.] Что касается моих собственных дел, то я даже не решаюсь о них говорить до тех пор, пока не смогу что-либо Вам прислать, так ужасно мне покамест опротивело ковырянье в таком множестве различного характера дел, причем в конечном итоге нигде не достигается цель. Сейчас я вздыхаю под грузом 12 ч лекций в неделю, не считая практикума, и к тому же без ассистентов, и мне лишь по временам удается опомниться.

В итоге у меня скопились целые кипы протоколов наблюдений и анализов, которые я время от времени совершенно неожиданно должен был провести, когда поступала определенная группа материала, с тем, чтобы на завтра опять-таки внезапно продолжить работу в совершенно ином направлении. Что Вы скажете, например, по поводу передвижения веществ в большом масштабе, которое осуществляется от одного органа к другому с большой скоростью? Какой орган является донором и какой зависит от определенных условий циркуляции, т. е. может регулироваться вазомоторно. Например, у лосося: дегенерация туловищной мышцы, атрофия, одновременно гиперемия брюшины и набухание селезенки в 20 раз, лейкоцитоз, массовое внедрение лейкоцитов в яичник, до тех пор, пока до половины многих твердых компонентов тела переходит в яичник (в такое время, когда животное не принимает абсолютно никакой пищи); транспорт веществ, аналогии которому до сего времени найдены только в растениях. То обстоятельство, что вообще какой-либо орган при определенных условиях, которые, вероятно, поддаются уточнению, может атрофироваться не за счет истощения или самопереваривания, а благодаря отдаче веществ в кровь в пользу других органов, представляет собой, как мне кажется, незамеченный до сих пор универсально действующий фактор в экономике животного организма, активность которого принимали во внимание в лучшем случае для жиров и углеводов. Таким образом, нервная система может функционировать в качестве строителя в большом масштабе и формировать и перестраивать органы по своему усмотрению.

LI [18*]

[Базель, 19 ноября 1878 г.] Я надеялся за 6—7 каникулярных недель, которые я смог посвятить работе, существенно приблизиться к моей конечной цели и завершению, однако я испытал много разочарований. Все яичники, исследованные мной за это время, не обнаружили никакого

внедрения или же только следы этого процесса, в то время как у самцов наблюдались признаки активнейшей деятельности. Если бы я начал работу только в этом году, то я пришел бы к убеждению, что внедрение не играет никакой роли. Даже животные, которых я на несколько дней посадил в клетки, ничего не показали. Дает ли внедрение лишь в первое время (с мая до августа) отдельные стимулы для образования клеток в гранулезной оболочке фолликулов, в то время как основной прирост главной массы клеток связан с пролиферацией гранулезы и внедрением продуктов? Хорошая питаемая гранулеза в конце концов представляет собой такую же лимфатическую железу, как всякая другая. Мое главное достижение на сей раз заключалось в прослеживании развития сперматозоидов. Кроме того, я прилежно кипятил мышцы, но не обнаружил там ни пептона, ни лейцина и тирозина и т. д. Напротив, дегенерирующие мышцы содержат значительно большее количество растворимого в воде белка в сравнении с недегенерирующими, так что я, если и дальше так будет продолжаться, вынужден буду сделать вывод о простом разжижении или ликвидации протоплазмы. При этом экстракты недегенерирующих мышц богаче кровью, чем экстракты упомянутых других мышц.

LII [19*]

[Базель, 12 декабря 1878 г.] В настоящее время я занимаюсь приготовлением водных вытяжек из различных мышц и нахожу во всех случаях значительно меньшее содержание крови у дегенерирующей мышцы туловища в сравнении с недегенерирующими мышцами плавников, хвоста и головы. Изучение растворенных белков не показывает резких различий, вероятно, из-за ригидного состояния, которое изменяет условия растворимости содержимого живых мышц. И все же передвигающийся материал, по-видимому, представлен белком, а не пептоном.

LIII [20*]

[Базель, 1 февраля 1879 г.] В отношении истории жизни лосося я недавно проследил две интересные фазы. Прежде всего у морского лосося, живот которого наполнен рыбой, не обнаруживается никакого следа мышечной дегенерации или же она обнаруживается только в том случае, когда еще довольно большой по своему размеру горб свидетельствует о том, что животное лишь недавно пришло из реки.

Вплоть до этой недели отнерестившиеся лососи встречались в Рейне, что обычно не бывает. Какое обстоятельство могло вызвать отсрочку из морского путешествия? Эти лососи, однако, несмотря на прогрессирующее похудание, возвращаются к типу морских лососей. Мышцы приобретают прозрачность, картины дегенерации исчезают. Столь обычные для половозрелых лососей полосы соединительной ткани исчезают. Также слущивается помутнившийся разросшийся эпителий нерестующего лосося, кожа становится похожей на кожу лосося, хорошо видны чешуйки, и это

несмотря на то, что у четырех самок я еще не нашел никаких следов остатков пищи в желудке и кишках. Загадка легко объяснилась при осмотре яичника. Там найдено множество остаточных яиц в самых различных стадиях резорбции. Пристеночная протоплазма как таковая дегенерирует и распадается, содержимое становится щелочным и набухшим, иногда вокруг яйца образуется слой гноя. Очевидно, неиспользованный яичник опять-таки послужил запасом на «черный день».

А как же у самца? И здесь исчезает мышечная дегенерация. Но, в то время как лосось, внутренности которого оказались совершенно пустыми, был найден мертвым в Рейне и, очевидно, очень страдал, в другом самце я встретил уникум, а именно в его желудке находились две большие сожранные пресноводные рыбы и циприноиды. Значит, нужда железо ломает.

У самки наблюдались даже признаки деятельности селезенки, набухание и умеренная обогащенность крови молодыми лейкоцитами. Взаимосвязь этих явлений у пресноводного лосося представляется мне поразительно простой.

Состояние голода, как уже давно известно на примере лягушек, вызывает замедление циркуляции, которое прежде всего можно связать со снижением тонуса сосудов. Сердечная слабость, если она уже не развилась как первичное явление, наверняка наступит, поскольку у рыб в сердце поступает сама венозная кровь. Следствием этого является по временам очень далеко идущая дегенерация сердца. Чем медленнее протекает кровь через органы, тем более венозной она становится. Это продолжается до тех пор, пока какой-либо organon minoris не оказывается в таком состоянии развития, что он ликвидируется, что означает образование неорганизованного растворенного белка из его организованной протоплазмы. Таким органом является туловищная мышца, которая содержит меньше крови, чем все другие мышцы тела, как я теперь могу утверждать на основании довольно порядочного числа экспериментов. Таким образом, эта мышца отдает вещества до тех пор, пока опять не появится новый источник. Однако циркуляция при этом не будет улучшаться, поскольку одновременно с процессом дегенерации происходит и исчезновение источника питания.

Процессы в половых железах, которые начинаются столь нетипично, как бы случайно и рывками, могут частично определяться расширением сосудов, вызываемым психическими и сексуальными факторами, как, например, какой-либо процесс эрекции. Если к тому же в этот момент увеличена селезенка, то из-за широко открытого бокового пути кровь медленно протекает через железы, с чем связан выход лейкоцитов. Позднее в яичниках и семенниках наблюдаются гиперемические стадии в отсутствие рака селезенки, но и без дальнейшего внедрения, т. е. ускоренное более мощное кровообращение и улучшенная вентиляция желез. Именно на этих стадиях происходит собственно образование сперматозоидов. Любая гиперемия брюшины естественно приведет к коллатеральному ухудшению вентиляции туловищной мышцы и к увеличению отдачи веществ. Встречающиеся в стадии течки опухоли селезенки поэтому могут слу-

жить источником питательных веществ, с помощью которых временно возрастает половая возбудимость.

Ты должен будешь со мной согласиться в том, что путем единственной центральной гипотезы я настолько полно охватываю взаимосвязь между вентиляцией крови и состоянием органа, что в итоге гипотеза опять-таки становится более достоверной. Все кажущиеся противоречия сглаживаются при учете указанного выше простейшего принципа.

Что до яичников, то я остаюсь на той точке зрения, что внедрение лейкоцитов дает лишь первый импульс, первые генерации способных к развитию клеток. Как только достигается приблизительно от $^1/_4$ до $^1/_3$ зрелого веса, рост яичника начинает действительно осуществляться в соответствии с основным направлением развития путем пролиферации гранулезы (около двух месяцев). В этот период селезенка совсем маленькая, кровь бедна лейкоцитами.

LIV [21*]

[Базель, 14 июля 1879 г.] Больше всего в данный момент меня развлекает микроскопическое исследование селезенки с инъекциями. Одним из результатов этой работы является обнаружение вместилища для окрашенных кровяных телец. По-видимому, прав В. Мюллер со своими промежуточными кровяными путями. Не может ли селезенка колориметрически содержать более 100% крови, т. е. не служит ли она благодаря слабому кровотоку фильтром для кровяных телец?

Мою гистохимическую технику я улучшил благодаря приобретению центрифуги, которая приводится в движение бесшумным хагенбаховским газовым двигателем мощностью в четыре лошадиные силы.

LV [22*]

[Базель, 30 ноября 1879 г.] Этой осенью и зимой я почти исключительно занимался, с одной стороны, гистологией селезенки, а с другой — вопросами обмена веществ. Селезенка приобретает интерес в связи с теми простыми средствами, с помощью которых действует этот регулятор кровообращения. Никакие мышечные опоры не принимают участия в уменьшении селезенки. Единственная движущая сила, помимо тонуса сосудов, благодаря которой ткань селезенки то сильно наполняется, то почти опустошается,— это артериальное кровяное давление. Самая маленькая и самая большая селезенка в расчете на один и тот же вес тела соотносятся примерно как 1 : 25. Самым неудачным объектом для изучения является селезенка млекопитающих, поскольку в ней перепутаны селезенка и лимфатические железы, в то время как селезенка рыб представляет собой селезенку в чистом виде. Я надеюсь, что смогу еще определить, какую долю ($^1/_3$?) общего количества крови может внутри себя удержать селезенка для регуляторных целей.

Тем временем продвигаются и анализы мышц, предстоит еще проэкстрагировать множество сосудов с размельченным мясом всех сортов. Не-

смотря на отдельные отклонения, в общем получаются довольно хорошие совпадения, в частности выявляется относительная интактность плавников при общем процессе исхудания. Даже в том случае, когда лосось (включая яичник) при созревании яичника совсем не теряет в весе, отдача веществ из всей другой мускулатуры достаточна для покрытия 40% обезвоженного материала яичника: Интерес представляет сравнение с самцами, которые тоже теряют много материала, но он расщепляется, а не отлагается в другом месте. В качестве транспортной формы белка я рассматриваю сывороточный глобулин, который имеется в избытке даже тогда, когда лейкоцитов мало. В связи с моими данными мне придется обсудить совокупность фактов по истощению и внутреннему обмену веществ в свете частично новых точек зрения.

Поскольку я не знаю, как далеко смогу продвинуться к весне, я пообещал нашей Комиссии по международной рыбной выставке только своего рода памятную записку специально с учетом важных для рыбного хозяйства положений. При этом, в частности, были использованы мной конторские книги Глазера и сообщения по рыбоводству из Голландии (длительность движения по Рейну, возраст и т. д.).

Некоторые доклады в обществе естествоиспытателей дадут мне возможность в течение этой зимы обобщить мой материал отрезок за отрезком. Лишь после этого я смогу поставить вопрос, что лучше сделать: написать ряд журнальных статей или монографию, в которой собрать решительно все.

LVI [23*]

[Базель, 11 июня 1880 г.] Первую часть моей работы я вообще написал, руководствуясь тем, что она предназначена как реферат для практиков и чиновников, а не является научной публикацией. Собирание и осмысливание статистического сырого материала, равно как и завершение целого ряда необходимых анализов мяса, так меня задержало, что к вечеру 20 мая еще не существовало ни одной буквы текста и ни одной таблицы. Из-за этого дело сильно застопорилось. В научной публикации, к которой проведена достаточно основательная подготовка, все будет наверстано. Никогда больше я, однако, не буду заниматься чем-либо к определенному сроку, ибо мой мозг внезапно останавливается по дороге, как загнанная до смерти кляча.

LVII [24*]

[Базель, 28 июля 1880 г.] Возвращаясь опять к моим лососям, я теперь имею новый конек — печень. Я надеюсь, что смогу доказать, что этот орган не только для углеводов, но и для белков и фосфорной кислоты служит в качестве контокоррентного банка, где избыток запасного белка может иногда накапливаться, но затем, однако, быстро ликвидироваться. Я не гарантирую, что моя следующая статья (после селезенки) не будет посвящена печени и именно во взаимосвязи с вопросами диабе-

та. Когда я этой весной сделал сахарный укол и в разгаре диабета быстро извлек печень, то она за счет сжатия сосудов и обескровливания превратилась в подошву, и бедность ее кровью бросилась в глаза даже моему служителю при размельчении. Однако самое главное заключается в моем предположении о том, что сущность диабета не исчерпывается потерей сахара. Больные умирают потому и потому поглощают пищу в столь огромных количествах, что из-за недостаточного кровообращения печень не выполняет своей роли в качестве депозитного банка для отложения запасного белка.

Я полагаю, что мне еще долго не удастся закончить научное истолкование того примера голодания, который нам демонстрирует лосось, даже принимая во внимание риск презрительного отношения ко мне, как стоящему намного ниже физиологу рыб со стороны физиологов собак, как это произошло в Бадене. В конечном итоге работа с нормальными процессами имеет также свои преимущества. Ведь многое из того, что наблюдает ученый при вивисекции, может быть отнесено за счет случайной раневой болезни или же механизма, не имеющего почти никакого значения в печени!

LVIII [25*]

[Базель, 29 октября 1892 г.] Мне еле хватило времени для того, чтобы еще всунуть мою работу по крови, цифры которой я еще не получил. Вопрос состоит в том, превышает ли содержание белка в кровяной сыворотке в наивысшей точке развития яичников содержание белка ранней весной при еще меньшей потребности в питательных веществах. Если это так, тогда регулирующий фактор действует где-то в ином направлении, а не участвует в установлении равновесия между циркулирующим белком и белком органов (Фойт) [26*].

LIX [27*]

[Базель, 17 марта 1883 г.] Мои лососи, начиная с нового года, не хотят успешно двигаться. За это время удалось в соответствии с возможностями выполнить лишь некоторое количество исследований крови, которые, как мне представляется, дали хорошие данные против представления Фойта о положении этих дел. Время каникул, которое мне удастся освободить от строительных дел, я надеюсь целиком и полностью посвятить моему любимому животному.

LX [28*]

[Базель, 24 ноября 1884 г.] Развитие яйца мне представляется все более странным. Иногда удается наблюдать обрывки протоплазмы коркового слоя с тонкими выростами, которые, очевидно, заполняли поровые канальцы. Я никогда не смог увидеть у здоровых фолликул картин, указывающих на иммиграцию целых клеток, даже в периоды самого интен-

сивного роста (сентябрь и октябрь), что разумеется еще не позволяет исключить иммиграцию кое-где отдельных клеток in toto. Гранулезная оболочка фолликулов яичников зачастую имеет только один слой с безобидно выглядящими клетками, которые удивительно легко отделяются от яйцевой капсулы большими группами; нет никаких следов выростов или сцеплений, которые бы указывали на их присутствие. Шары и зерна имеют столь различную величину, что уже поэтому не могут рассматриваться как морфологические и жизненные элементы. Поскольку казеин молока представляет собой аналогичное вителлину соединение белка с нуклеином, мне кажется, что учение о возникновении желтка лишь тогда будет упорядочено, когда будет установлена известная аналогия с секрецией молока. Клетки гранулезной оболочки фолликула могут так же, как клетки молочной железы, черпать материал из крови или распадающихся лейкоцитов и образовывать из него казеиноподобное вещество. Яйцеклетка соприкасается своими выростами через капсулу с клетками гранулезной оболочки и аккумулирует внутренние подготовленные части клеток. Принятый материал она потом выделяет внутрь, подобно тому как это происходит с выделением крахмала и белковых зерен у растений, сначала в виде прозрачных шаров (вителлоген), которые лишь позднее подвергаются специфическому превращению в вителлин. При этих процессах главную роль играют явления конденсации. Белок, нуклеин, лецитин, железо, фосфорная кислота, все возможное, образуя эфиры, соединяется в форме вителлинов, ихтинов и тем самым становится полностью биологически неактивным до тех пор, пока исходящая из оплодотворенного яйца деятельность ферментов вновь разложит этот химический конгломерат на составные части, высвобождая таким образом индивидуальные силы каждого компонента. С расщепления и переваривания начинается любая форма использования составляющих частей желтка. За расщеплением следуют опять-таки процессы конденсации, но иной природы и направления, благодаря чему образуются живая протоплазма и живое ядро и все гетерогенное остается разделенным... И в нуклеине лосося содержится немножечко железа, напротив, полученный мной нуклеин спермы совсем не содержит его, так же как, по-видимому, и дрожжевой нуклеин. В моей работе по гною (1871) [29*] имеется указание, что при промывании ядер оставалось несколько небольших хлопьев, напоминающих окись железа, которые я, однако, рассматривал как случайное загрязнение, поскольку железо присутствует в каждой пылинке, а я работал с малыми количествами материала. Что касается яйца, то не следует забывать о том, что там взаимосвязано все и каждое, в том числе и железо. Во всяком случае, это послужит стимулом для более детального изучения судьбы железа в клетке, и я уже снова занялся гноем.

LXI [30*]

[Базель, 16 мая 1887 г.] Что касается моей научной деятельности, то я снова сильно погрузился в химию. Я кажусь самому себе человеком, оказавшимся в долговой тюрьме. До тех пор пока не будут уплачены

старые долги, я не смогу приступить к новым задачам. И вот с середины февраля я поэтому интенсивно принялся за самые старые из моих долгов — сперму и нуклеин и приготовил, насколько это только возможно, чистые препараты, которые теперь могут быть проанализированы.

И работа по яйцу продвигается, я предложил построить особо маленькую центрифугу для отделения всех тяжелых механических частиц, которые там встречаются. Мой главный интерес в этом деле заключается в веществе ядерного содержимого. Я могу, в частности, путем расщепления непереваренного остатка получить из вителлина подлинное белковое вещество (без какой-либо реакции на нуклеин), которое содержит фосфор. Уже в 1873 г. я получил нечто подобное из спермы и ядер клеток гноя. Если справедлива моя точка зрения о том, что химическое понятие о желтке должно быть уточнено и выражаться как химическая взаимосвязь всех существенных образующих клетку веществ, которые затем при развитии вновь расщепляются и пространственно разделяются между ядром и протоплазмой, тогда вещества будущего ядерного содержимого (нуклеин дает ядерную мембрану и ядерный остов) должны были бы отщепляться из вителлина и, возможно, именно таким путем их удалось бы получить в самом чистом виде.

Кроме того, сейчас у меня собран весь материал для того, чтобы определить величину строительных издержек при перестройке вещества желтка в тело эмбриона, что означает 6000 яиц лосося, половина которых различным образом зафиксирована для анализа еще до наступления развития, а другая половина оставлена без питания как раз до момента исчезновения макроскопически видимого желточного пузыря. Теперь недостает только лишь $n \cdot (n-1) \cdot (n-2) \ldots$ Анализы определения азота, фосфора, жира и золы, короче, бесконечная ремесленная работа, для которой, по существу, необходим годовой отпуск.

LXII [31*]

[Базель, 12 марта 1888 г.] Что ты скажешь по поводу того, что химик О. Либерманн из Будапешта простым осаждением яичного белка метафосфорной кислотой получил осадок, содержащий 6—7% фосфорной кислоты; этот осадок, как я мог констатировать на присланном мне Либерманном препарате, вел себя точно так, как яичный нуклеин. Несколько иначе дело, правда, обстоит с нуклеином из спермы лосося, там вообще нет белка. Осадок метафосфорной кислоты и белка, описанный еще Берцелиусом, таким образом, должен был бы являться ничем иным, как синтетически приготовленным нуклеином. Если даже не все здесь еще ясно, то мы получили исходную позицию для всесторонних исследований поведения фосфорной кислоты в живых тканях. Я не могу не заметить, что химическая статичность фосфорной кислоты по отношению к воде, щелочным металлам и белку может рассматриваться как одна из самых перспективных ключевин, позволяющих заглянуть во внутрь клетки. Там и осуществляются те легкие переходы солеобразных и эфирообразных связей, от которых в конечном счете зависит все в целом.

LXIII [32*]

[Базель, 23 ноября 1888 г.] С середины сентября без единого дня перерыва я засел в лаборатории, зачастую с 6 ч утра до позднего вечера, в надежде наконец-то вкатить на вершину Сизифов камень, называемый Salmo salar. Удастся ли это, я еще пока не могу сказать, но в добрых намерениях недостатка нет. Специальной задачей был химический анализ крови 25—30 или более лососей, находившихся в наивысшей точке передвижения веществ (середина сентября до начала октября), для того, чтобы уловить передвигающиеся вещества in flagrant [33*]. Полученные данные не лишены интереса, хотя, к сожалению, несколько неоднозначны. То что удается обнаружить, зачастую представляет собой лишь продукт резорбции погибших фолликулов. В целом у меня создалось впечатление, что за огромное затраченное мной время в течение двух месяцев я получил лишь умеренное вознаграждение.

LXIV [34*]

[Базель, 31 декабря 1888 г.] Что касается лососей, то я пока ничего не могу сообщить, кроме того, что среди прочего пытаюсь обосновать истинное значение компонентов желтка, руководствуясь при этом их судьбой при эмбриональном развитии. Если бы у меня было столь же много времени, как материала, то удалось бы продвинуться далеко.

LXV [35*]

[Лето 1889 г.] В настоящее время на повестке дня вновь оказался яичный желток; прослеживается путь некоторых веществ из туловищной мышцы в кровь, оттуда в яичный желток и из него в готового сформированного лососеночка со съеденным желточным пузырем. По ряду пунктов мои воззрения на эти процессы изменились. Мои четыре образца таковы: курица, лосось, жерлянка, омар. Весь ряд полностью, разумеется, прослеживается только у лосося. Яичный желток занимает куда менее привилегированное положение, чем я ранее предполагал.

LXVI [36*]

[Базель, 3 июля 1890 г.] ...Я довольно много работал в лаборатории. В качестве антитезы против яичного нуклеина я специально занялся продуктами расщепления нуклеина лососевой спермы. Я получил многие весьма своеобразные, хорошо кристаллизуемые соединения, возможно, новые вещества, исследованием которых я теперь занимаюсь. Во всяком случае, этот нуклеин имеет исключительно своеобразное химическое строение, сильно отличающееся от белка.

LXVII [37*]

[Базель, 10 ноября 1890 г.] Стал ли бы ты возражать, если бы я химико-морфологическую работу о яйце (курица, бомбинатор, лосось и омар), которая все-таки будет готова в течение этой зимы, направил бы в «Zeitschrift für Biologie»?

Описанную мной в 1873 г. структуру сперматозоида рыб не смог наблюдать даже с помощью самых лучших линз новый автор, Балловиц. В этом случае мне, очевидно, придется защищать себя против цеха красильщиков, который утверждает, что там нет ничего, кроме хроматина (нуклеина), в то время как легко можно доказать присутствие различных, пространственно разделенных веществ в головке сперматозоида.

LXVIII [38*]

[Базель, 31 декабря 1890 г.] Твои замечания о сперматозоидах застали меня сидящим уже за спермой лосося. Картина с внутренней полостью и микропорусом легко подтверждается, в том числе и с помощью окрашивания. Единственно, что мне доставляет затруднения, заключается в том, действительно ли микропорус продолжается во внутреннее пространство в форме изолированного образования. Как раз те сильные различия в светопреломлении между оболочкой и внутренним пространством, которые выявились при использовании избранных в 1873 г. методов (золото и т. д.), препятствуют однозначному установлению дальнейших деталей внутреннего строения.

Однако я поставил в этом деле и химические цели и в конце концов получил в результате бесконечного центрифугирования очень красивый материал головок сперматозоидов абсолютной чистоты, без каких-либо следов хвостов; на этом препарате можно будет макрохимическим путем проверить недавно предложенный тезис о головке сперматозоида как только комочке хроматина. Работу с яйцами мне пришлось прервать из-за этого на пару недель.

LXIX [39*]

[Базель, 3 марта 1891 г.] Мое сражение со сперматозоидами не дало ничего, кроме того, что мне пришлось подтвердить со всей точностью сделанные в 1874 г. указания о строении головок сперматозоидов. Соответствующие детали совершенно четко видны с объективом Цейсса при сухом фиксаже, окуляре IV без призмы Аббе. Более сильные линзы не давали улучшения. Теперь собранный материал нужно обработать химически. Настолько много информации можно получить от этого чудесного, но трудного объекта, которым, по-видимому, никто, кроме меня, еще не располагает. Но мне нужно было бы иметь пятьдесят рук, а не просто две. Я же занят из года в год с раннего утра до полуночи, и вряд ли найдутся исследователи этого вопроса, которые разрешают себе меньше отдыха. Но предмет изучения подобен лернейской гидре, у которой вместо

каждой отрубленной головы вырастают шесть новых. По отношению к новым вопросам и сомнениям, возникающим повседневно, все установленное до сих пор мне представляется таким ничтожным и бесполезным, что не стоит и возвращаться к нему мыслями, не говоря уже о том, чтобы что-либо написать. Я думаю, что это своего рода душевная болезнь.

Лишь тогда, когда там или тут я встречаю напечатанный другим автором незрелый фрагмент из собранного мной материала, я замечаю, что смог бы сделать из своих данных.

В данный момент я воспользовался последними прохладными днями, чтобы справиться с работой Альтмана по нуклеину[40*]. Мне кажется удачным использование им уксусной кислоты, а затем соляной кислоты, но выход вещества при его методике очень невелик. Мой нуклеин лосося, разумеется, идентичен его нуклеиновой кислоте, несомненно самой чистой из всех известных. Однако в связи с расщепляемостью исключительно трудно составить представление об истинном составе.

LXX[41*]

[Базель, 31 декабря 1891 г.] Последний взятый в работу раздел наряду с некоторыми вопросами, касающимися спермы, заключается в очень своеобразном поведении углеводов. В стадии самого крайнего истощения после нереста у животных еще обнаруживается гликоген. Работа со сперматозоидами у меня, по-видимому, полностью налажена: точная изоляция интактных сперматозоидов из жидкой среды, выделение головок, вещества хвостов в растворе и т. д. Мне лишь нехватает дюжины рук.

LXXI[42*]

[Базель, 17 декабря 1892 г.] На сей раз я охотился за хвостами сперматозоидов, несколько граммов, которые мне удалось собрать, правда, ценой очень большой работы с центрифугой. В ближайшие месяцы придется очень гнать работу, если добиваться, как это необходимо, согласованного продвижения элементных анализов, качественно-химического изолирования веществ и микроскопических исследований. Чем больше я занимаюсь хвостами, тем вероятнее для меня становится, что, по существу, мы в этом случае имеем дело с химическим типом безмякотного нервного волокна, т. е. имеем дело с осевым цилиндром; очень любопытен близкий к муцинам белок, находящийся в слабой связи с массой лецитина, и т. д.

LXXII[43*]

[Базель, 28 июля 1892 г.] Мое самое новое достижение состоит в том, что внутри головок сперматозоидов находится свободное от фосфора, но содержащее железо вещество, приблизительный состав которого я надеюсь установить косвенными путями. Во всяком случае, это жизненное вещество первостепенной важности, которое, вероятно, предшествует

нуклеину в процессе развития ядра. Все это будет выяснено при анализах незрелых семенников. Мои мучительные микроскопические наблюдения над семенниками в 1872—1876 гг. и накопленный с тех пор материал вдруг находят себе применение. Я даже придумал уже название: кариоген. Я полагаю, что гемоглобин является лишь специальным вариантом имеющейся в каждом ядре основной схемы железосодержащих веществ. Моя ближайшая цель состоит в обнаружении хромогенной группы. Специальные хроматиновые реакции (метилвиолет, сафранин) дает не нуклеин, а железосодержащее, свободное от фосфора вещество.

Насколько точно можно установить пространственное разделение веществ в головках сперматозоидов, видно из следующего: чистые головки, даже после удаления протамина экстракцией соляной кислотой, не дают следов миллоновой реакции, одной из самых чувствительных белковых реакций, но действующей лишь с поверхности. Если обработать головки сперматозоидов едким натрием на холоду и затем отцентрифугировать, то остается осадок, который самым наилучшим образом дает все реакции на белок. Очевидно, железосодержащий белок находится внутри, нуклеин — снаружи. Гематоген Бунге ведет нас по ложному физиологическому следу, дело заключается всего лишь в конденсации окиси железа с органическими веществами, осуществляемой в целях накопления запасных веществ, в совершенно свободных, легко разрушаемых комбинациях, не имеющих какого-либо интереса для клеточной физиологии. Подобные явления легко демонстрируются в искусственных условиях.

Если бы можно было прожить пару сотен лет и никто бы за тобой не гнался, то было бы радостью работать с этими вещами, но vita brevis, ars longa [44*].

LXXIII [45*]

[Базель, 9 июня 1893 г.] Я совершенно одержим мыслью изолировать вещество из внутренности сперматозоидов и получил теперь, хотя и ценой многих миллионов оборотов центрифуги, препараты, на которых удается продемонстрировать весьма вероятное существование совершенно новой группы веществ, абсолютно отличных как от нуклеина, так и от белка, содержащих железо, третью биологическую силу Sui generis [46*]. Но трудности никоим образом еще не преодолены, причем, как это ни странно, они носят не химический, а механический характер.

Как только из этих самых, абсолютно чистых головок сперматозоидов произведено удаление нуклеина, нерастворимые набухшие комочки внутренней плазмы оказываются столь тонко разделенными, что никаким способом их не удается вновь объединить. Понадобятся все «военные» хитрости, чтобы это преодолеть.

При подходящей возможности я надеюсь пролить также некоторый свет в вопросе о секреции соляной кислоты желудочными железами. Как известно, образование ангидридов с выделением воды и образование гидратов с ее поглощением принадлежат к числу самых распространенных и обычных реакций, которые растительные и животные клетки регули-

руют по своему усмотрению. Передвижение крахмала основано на том, что он каждую ночь превращается в сахар и каждый день в каком-либо ином месте — снова в крахмал. До сего времени эти превращения рассматривались физиологической химией лишь как вспомогательное средство процессов расщеплений и конденсаций. Но существуют и процессы образования внутренних ангидридов в пределах одной молекулы. Оксикислоты (молочная кислота, лейциновая кислота и т. д.) образуют такого рода ангидриды, так называемые лактоны, и с выходом воды утрачивают при этом свои кислые свойства полностью или частично, чтобы обрести их вновь при включении воды. Вероятно, подобные соотношения имеются и у оснований (переход креатина в креатинин). Таким образом, живая клетка располагает кислотами, которым она в любое время может запретить или разрешить быть кислыми, а также основаниями, которым она может позволить быть или не быть щелочными. К кислотам такого рода, по-видимому, относится среди прочих и нуклеиновая кислота. В ходе моих работ со спермой я имею дело с постоянным отделением труднорастворимых осадков, богатых фосфором, растворимых в щелочах, нерастворимых в кислотах, с гораздо менее выраженными кислотными свойствами, чем исходный нуклеин. Интактный нуклеин, однако, является сильной кислотой, под действием которой может происходить разложение поваренной соли с выделением соляной кислоты. Не могут ли и в клетке существовать такие содержащие гидроксилы коллоидальные кислоты и основания (для которых нуклеин служит главным примером), которые по команде при выходе или входе воды проявляют свои кислотные или основные свойства?

LXXIV [47]*

[Базель, 13 октября 1892 г.] Я все еще день и ночь занимаюсь спермой. Меня увлекает возможность проработать до полной ясности все дело со сперматозоидами, включая вопросы их генезиса. Будет ли это скромное желание хотя бы наполовину реализовано, зависит от результатов анализов.

Представляющаяся мне тема такова:

Ядро состоит из двух веществ

1. Нуклеин, содержит фосфор, не содержит железа, не является белком.

2. Кариоген, не содержит фосфора, содержит железо, вероятно, белковое вещество с присоединенной (хромогеновой?) группой.

Протоплазма состоит в зависимости от обстоятельств из 1, 2 или более белковых веществ, между которыми нет какой-либо глубокой генетической пропасти. Ядра незрелых клеток семенников состоят из нуклеина и кариогена. Белок, по крайней мере, обычный, свободный от железа белок отсутствует. Головка сперматозоида, напротив, содержит протоплазматический белок, что означает специфический состав части, остающейся после вычета нуклеина, который в случае ядер клеток семенников может быть приписан кариогену лишь при допущении наличия примесей подлинных протоплазматических белков.

Не существует особых ядерных остатков для сперматозоидов, в противоположность которым клетки семенников функционируют только за счет распада материала и его резорбции. Сами клетки семенников превращаются в сперматобласты. Ядра становятся слабо преломляющими, наблюдаются частые картины распада на тонкие зерна, причем, однако, сохраняется всегда тонкий контур протоплазмы. При этом клетки становятся характерно рваными и приобретают необычно резко очерченный контур (исходный слой протоплазмы) на просветлившемся содержимом, и сперматобласт готов. С известными, впрочем, весьма индифферентными жидкостями (раствор глауберовой соли в концентрации 1 : 70 или 1 : 1000 уксусная кислота) достигается разделение на поверхностный слой с выростами, напоминающими скелетные, во внутрь и внутреннее содержимое клетки. Тем временем появляются уже зачатки головок сперматозоидов, и притом именно внутри поверхностного слоя скелетного вещества в виде светящихся, сильно преломляющих точек, которые заострены то в длину, то в виде стрелы. Морфологически сперматобласты возникают, таким образом, как творение и отпечаток остающейся протоплазмы.

О дальнейшем позволяют судить выполняемые, правда, с большой осторожностью, микрохимические реакции. К тому времени, когда от сперматозоидов еще ничего или почти ничего не видно, имевшийся ранее в огромных количествах нуклеин, образовывавший, вероятно, главную массу, микрохимически нацело исчезает. Очень разбавленная соляная кислота все это растворяет вплоть до совсем маленького комочка, представляющего собой зачаток сперматозоида наряду с сильно уплотненным вокруг него веществом поверхности и остова. Также действует желчь. Очевидно, должно было образоваться химическое соединение, но с чем? Это я надеюсь проверить макрохимическими методами.

Прежде всего следует напомнить, что вещества поверхностного слоя и остова не представляют всю массу исходно имевшейся протоплазмы. Очевидно, произошло расходование протоплазменного белка. Но как ведет себя кариоген, который в ядрах клеток семенников растворяется в желчи, но через желчь и хлористый кальций (образуя, по-видимому, при этом с кальцием нерастворимое соединение) может быть сохранен. Если обработать сперматобласты желчью ($^1/_4$%) и раствором хлористого кальция (1%), то они сжимаются, но меньше, чем если обработать только желчью или только соляной кислотой. При этом они не только уплотняются, как, например, в случае обработки концентрированным раствором поваренной соли, но происходит внутренняя дезорганизация, разрушение и образование полостей. Согласно моему объяснению, происходит разделение внутренней плазмы на нуклеоальбумин, переходящий в раствор, и кариоген, остающейся в виде соединения с кальцием. Таким образом, нуклеин, во всяком случае, был связан не с кариогеном, а с белком. Отделен ли кариоген пространственно от нуклеоальбумина или смешан с ним, я еще не знаю, но предполагаю первое. Я вообще не верю в смешивание подлинных тканеобразующих веществ. Уже ради возможности независимого роста и питания каждая должна располагаться в предназначенном для нее пространстве. Смешивание может встречаться в фор-

ме слияния, но, вероятно, лишь в неактивной стадии (яичный желток). Активной здесь сохраняется, таким образом, протоплазма и, возможно, находящийся в ближайшем контакте с нею кариоген. Даже тогда, когда головки сперматозоидов в виде похожих на палочки E. coli пуговок с вытянутой шейкой прорастают из протоплазматического слоя кнаружи, они с внутренней стороны окружены слоем протоплазмы. Этот слой у лосося, по-видимому, исчезает, в то время как у некоторых животных сохраняется в виде шапочки головки.

Указанием на то, что протоплазма принимает в период чеканки нуклеин, который отщепляется от нуклеоальбумина, служит сильно преломляющее свет уплотнение, вызываемое действием соляной кислоты. Это наводит меня на мысль, что кариоген не просто отлагается изнутри, но протоплазма резорбирует путем внутриклеточного переваривания кариоген и нуклеоальбумин (подобно тому как это осуществляют клетки эндотермы, когда резорбируют желток или их собственные желточные ядра) и отлагает на первичной протоплазматической шишечке кариоген до тех пор, пока его больше не остается. Затем наступает очередь нуклеина, который образует оболочку, если только не включается образующаяся путем впячивания шапочка головки.

Откуда берется протамин (около 20%)? Откуда далее поступило связанное с нуклеином железо? Приходится поставить эти вопросы, так как в клеточной стадии семенников нет ни протамина, ни чего-либо ему соответствующего, и можно полагать, что эти группы веществ взаимно компенсируются в качестве эквивалентных пунктов в дебите и кредите в балансе образования спермы.

Тут-то и начинаются варианты процесса образования спермы, все описанное ранее было универсальным. Белок, который временно был связан с нуклеином, теперь использован и должен быть удален. Кроме того, он частично разрушен или подвергается разрушению в целях удаления. Имеются различные пути для устранения белка. Могут сжигаться жирные атомные группировки (что маловероятно) или появляться в форме лецитина (лецитин — это протоплазматическое образование, присутствующее в хвосте, но не в головке). Богатый азотом остаток может в виде протамина связываться с нуклеином. Азотсодержащие остатки могут также иным путем элиминироваться, чем и объясняется присутствие известных спермовых оснований (спермин и т. д.). В самом деле, почему бы не быть среди этих продуктов распада веществ с токсическими свойствами? Возможно также, что серосодержащий остаток кератина связывается с нуклеином и возникают богатые серой, устойчивые головки сперматозоидов быка, из которых путем воздействия теплого раствора едкого натра можно отщепить свободный от серы нуклеин. И маленькие зернышки или капельки, которые наблюдал Барделебен, могли бы сюда относиться. Короче, этот сам по себе не столь значительный процесс удаления находившегося в соединении с нуклеином белка дает возможность для самых разнообразных особенностей и вариантов.

Характерная черта образования спермы состоит в атипических изменениях величины всех образований: большие клетки имеют малые ядра.

а малые клетки — большие. Это отнюдь не следует понимать таким образом, что перед стадией перечеканивания все должно быть доведено до стандартной массы. Превращение в сперматобласты охватывает всю эту пеструю совокупность клеток, больших и малых, со всем их разнообразием. Сперматобласты опять-таки могут быть исходно более крупными или более мелкими. Более крупные могут делиться или образовывать почки или же оставаться большими. Но и здесь нет какого-либо конечного типа формы и величины. Имеется множество сперматобластов лишь с одной головкой наряду с такими, которые образуют 20—40 головок; напротив, готовая головка сперматозоида, подобно монете, уверенно и точно отчеканена с постоянной величиной и формой.

Между головкой сперматозоида и ядром нет морфологической непрерывности. Ядро представляет собой лишь материал, из которого образуются два из трех компонентов головки. Морфологическая непрерывность существует лишь для участвующей протоплазмы, которая одновременно функционирует как лаборатория для переработки и перечеканки веществ ядра. Однако и эта протоплазматическая масса, поверхностный слой и скелет не представляют собой единого морфологического целого на единицу, а должны рассматриваться лишь как количество вещества на определенную площадь поверхности или нечто подобное. Величина и форма сперматобластов не имеют значения; дело касается только способной благодаря своим внутренним свойствам к чеканке протоплазматической субстанции, которую я представляю себе организованной в противоположность к материалу ядра.

То, что внутреннее содержимое сперматобластов используется, доказывается при взгляде на сперматобласты в различных стадиях созревания. Чем крупнее и более созрели головки, тем бледнее и более слабо преломляет соединительная промежуточная субстанция. Почти невозможно указать момент, когда уже нет более ни одного зрелого сперматобласта и появляется множество сперматозоидов.

Разумеется, весьма возможно, что некоторые пункты этого предварительного построения будут опровергнуты аналитическими данными. Однако многое, несомненно, окажется справедливым. Для тех, кто считает так называемое наивное непредвзятое наблюдение самым прекрасным методом научного исследования, я бы предложил задачу в течение трех недель при ограниченном числе отведенных для химической работы часов, на нескольких немногих объектах, которые к тому же вдруг внезапно исчезают, пронаблюдать решающие детали и реакции без того, чтобы не опираться на ранее составленные представления. Бессель это понимал довольно хорошо, когда он заметил по поводу наблюдения одной кометы: «Я сожалею о том, что до сих пор не существует еще гипотезы о природе комет, которую можно было бы проверить наблюдениями».

То положение, в котором находятся дела по изучению оплодотворения у низших животных, позволяет считать, что данные о сперматогенезе не могут не оказать влияния на истолкование деталей образования яйца. Потому что если головка сперматозоида в зародыше представляет три фундаментальных составляющих компонента клетки, то следует эти три

компонента искать в качестве основных элементов в ядре яйца, т. е. в той части яйца, которая осуществляет копуляцию. И здесь надлежит искать своего рода перечеканку обычного материала клеточного ядра в материал зародыша. Например, растворимая в соляной кислоте часть зародышевого пузырька млекопитающих, вероятно, соответствует нуклеиново-альбуминовой стадии спермы. Выталкивание направительных телец, которое, если я не ошибаюсь, следует за этой нуклеоальбуминовой стадией, естественно представляет собой процесс элиминации, благодаря которому использованный белок конъюгации в какой-то форме устраняется.

Половое зачатие состоит в том, что все три фундаментальные субстанции мужской клетки — нуклеин, кариоген и протоплазматический белок, редуцированные и подготовленные до способного к воспроизведению состояния, встречаются с соответствующим образом подготовленными субстанциями ядра женской клетки и каким-то образом объединяются в ходе каких-то кариокинетических пантомимных танцев. Во всяком случае, такое представление о сперме позволяет подвергнуть принципиальной дискуссии морфологический метод в его приложении на самые интимные клеточные процессы и вернуть этот метод в его подлинные допустимые границы, которые он за последнее время уже во многих пунктах перешагнул.

В настоящее время я вынужден из-за начала семестра оторваться от этих вещей и прошу тебя рассматривать это непристойно длинное письмо как элиминацию отработанного мозгового вещества.

LXXV [48*]

[Базель, 17 декабря 1892 г.] Я особенно люблю читать литературу по биологии растений. Именно там можно найти основополагающие универсально справедливые положения о раздельнополости. (Глубже всего у Дарвина о явлениях перекрестного оплодотворения и гибридизации.) Все явления раздельнополости у животных уже наполнены специфическими приспособлениями, маскирующими главный принцип. Ключ к пониманию раздельнополости, по моему мнению, следует искать в стереохимии. «Зародыши» дарвиновского пангенезиса представляют собой не что иное, как многочисленные асимметрические атомы углерода в организованных веществах. Эти атомы углерода могут изменять свое положение под действием ничтожных причин и внешних условий, в результате чего постепенно возникают ошибки в организации. Раздельнополость — это приспособление для исправления этих неизбежных стереометрических архитектурных ошибок в структуре организованных веществ. Левонаправленный корригируется правонаправленным, и равновесие, таким образом, восстанавливается. У огромных молекул белковых тел или у еще более сложных, как в гемоглобине и т. д., благодаря большому числу асимметрических углеродных атомов создается возможность столь колоссального количества стереоизомеров, что все богатство и разнообразие наследственных передач также хорошо могут найти в них свое выражение, как слова и понятия всех языков в 24—30 буквах алфавита. По-

этому вообще бесполезным является стремление рассматривать клетку яйца или спермы в целом как помещение для запасания бесчисленных химических соединений, каждое из которых должно выполнять роль носителя определенного наследственного свойства (пангенезис Де Фриза). Протоплазма и ядро, и я это должен признать на основании моих исследований, состоят не из бесчисленных химических соединений, а из очень немногих химических тел, хотя, вероятно, и весьма сложного строения.

LXXVI [49*]

[Базель, 22 июля 1893 г.] С моими работами по сперме теперь наконец-то благодаря энергичной помощи моего аналитика д-ра Гмелина дело начало понемногу продвигаться. Я располагаю данными сравнительных анализов чистого нуклеина и головок, которые убедительно свидетельствуют о том, что кариоген является субстанцией вполне sui generis, совершенно несходной с белком и в основе своей отличной от нуклеина, содержащей железо, но свободной от фосфора и серы, и является первым примером совершенно нового биологического ряда веществ. Так, например, несомненно, что кариоген содержит более 30% азота, и тем самым он занимает странное промежуточное положение между белком и ксантиновыми телами. Как я уже давно предполагал, здесь выступает тот факт, что наряду с белком и нуклеином кариоген входит в тройственный союз химических условий жизни. В сравнении с этими тремя активными веществами в их разнообразных вариантах все остальное отступает на второй план. В особенности все то, что объединяется под именем желтка, эозинофильные гранулы, кровяные пластинки и т. д. Все это должно, собственно говоря, рассматриваться как секрет, несмотря на то что оно может обладать прекрасным двойным лучепреломлением и великолепно прокрашиваться пикрокармином и гематоксилином. В качестве самой трудной задачи гистохимии я рассматриваю необходимость отличать собственно активные вещества от вторичных продуктов превращения, имеющих лишь значение питательного материала, возможность всегда определить, обладает ли какой-то прокрашиваемый комочек свойствами жизни или представляет собой только Caput mortuum. Ведь и в живой клетке такая частичная деградация происходит постоянно, и расщепившиеся молекулы в новой жизненной фазе могут вновь ассимилироваться сохранившими свою активность остатками и превращаться в активную протоплазму, ядро и т. д. Так, например, Коссель попал на ложный биологический след, когда он рассматривал клетки зобной железы в качестве прототипа нормального химического строения клетки. У этих клеток активная субстанция в основном деградирована. Вещества ядер, во всяком случае не без более глубоких изменений, соединились с веществами протоплазмы, образуя напоминающие желтки коллективные молекулы. Косселевский лейконуклеин, из которого в основном состоят клетки, представляет собой деградировавший аутосекрет, некробиотический продукт. Гнойная клетка в быстро образующемся гное дает совсем иную картину. Для изучения собственно химико-биологических проблем сперма обла-

дает тем значительным преимуществом, что здесь все сведено к собственно активным субстанциям, и их удается захватить в тот момент, когда они проявляют свою наивысшую физиологическую функцию, и поэтому не может возникнуть даже самого слабого подозрения какой-либо деградации. Здесь мы имеем дело с веществами в их подлинном состоянии и в самой активной фазе. Когда я составляю свой план на ближайшие два—три года, то предусматриваю написание трех маленьких статеек.

1. Исследование сперматозоидов рейнского лосося и некоторые биохимические вопросы, связанные с этим.

2. Химические исследования яйца и его положения по отношению к живой клетке. (К сожалению, получится лишь бедноватая заметка, поскольку неимоверно много прекрасного материала было утеряно из-за недостатка времени, помощников и наличия других более срочных задач.) При этом будут рассмотрены многие аналогичные явления (молоко, кожный жир и т. д.).

3. Рейнский лосось и вопрос о передвижении веществ. Здесь будет представлен оригинальный цифровой материал. Лосось фигурирует только как ключевина для группы экспериментальных работ, для которых теперь уже проложены пути (изучение тканевого дыхания и т. д.).

Благополучно разделавшись с лососем, я смогу приступить к ответу на вопросы физиологов касательно нормальных процессов регуляции. И это будет только продолжением и дальнейшим развитием программы, представленной еще в юбилейной статье 1885 г. Наша экспериментальная вивисекционная физиология во многих пунктах, где она стремится к установлению закономерностей, является на самом деле всего лишь плохой патологией и фармакологией. Она исходит из ошибочного мнения о том, что для отчетливого представления о физиологическом явлении нужно лишь воспользоваться хорошим увеличением (как, например, микроскопом для кровяного тельца), что достигается грубым экспериментальным вмешательством, и сделать таким путем заключения о нормальной жизнедеятельности. В этом смысле мне представляются особенно ценными явления тонкой адаптации к высокогорному климату.

LXXVII [50]*

[Риги Клёстерли, 28 июля 1893 г.] Представленное Барфуртом доказательство содержания железа в мегасферах представляет большой интерес для вопроса о превращениях веществ в желтке, однако, согласно описанию, это железо не связано органически, а является обычным солеобразным железом, т. е. не находится даже в такой слабой связи, как в гематогене Бунге, где оно прикрепляется к молекуле в значительной степени снаружи (именно поэтому Шмидебергу удалось синтезировать искусственным путем аналогичные железоальбуминаты и приготовить их в качестве терапевтических препаратов, содержащих до 6% железа). Описание мегасфер создает у меня впечатление как будто бы в этих (безъядерных?) комочках протоплазмы осуществляется своего рода внутриклеточное переваривание вителлина, продукты которого составляют

самую первую, наилучшим образом приготовленную пищу для растущих клеток. Мне представляется чрезвычайно интересным, что гематогеновое железо при этом акте снова превращается в металлическое железо, которое затем совершенно самостоятельным образом перерабатывается в клетке. Возможно, что гематогеновое железо представляет собой полезную форму безвредного отложения железа для дальнейшего использования, но оно не является промежуточной стадией между металлическим железом и гемоглобином или другими биохимическими железосодержащими соединениями, а как раз наоборот: никакого следа прямой причинной связи. Название гематоген, как показал еще Жаке, не выдерживает никакой критики.

В моем кариогене, напротив, как, впрочем, это известно и для гематина, железо настолько прочно связано и заякорено в органической атомной группировке, что через короткое время после обработки горячей концентрированной азотной кислотой даже не удается получить реакции на железо. В этом случае мы имеем дело с подлинно биологическим использованием железа, в известной степени с биологически центральным железом, в противоположность которому все другие варианты органического связывания железа представляют более подчиненные звенья, участвующие в поступлении и отдаче веществ.

Гораздо ближе подошел к моим выводам некто Маккаллум из Торонто, который уже в течение продолжительного времени занимался поисками железа в клеточных ядрах, и притом именно микрохимическим путем. Спиртовые препараты ядер более грубой структуры обрабатываются в течение недель и месяцев сернокислым аммонием при нагревании. Он утверждает, что хроматиновый скелет дает реакцию на железо. Реактивы действуют столь разрушительно, что я с трудом могу себе представить, каким образом могут быть сделаны какие-либо заключения о более тонкой локализации внутри нежных компонентов ядра. Если при расщеплении высвобождается железо, то уже позднее какой-либо оформленный элемент может импрегнироваться этой железной протравой, хотя до того он железа не содержал. Но эти данные все же представляют собой указания, побуждающие меня спешить с окончанием работы, тем более что Маккаллум как раз работал также с семенниками. Приходится согласиться с тем, что от такого рода микрохимии потребуется еще значительный шаг к изолированию и аналитической идентификации веществ, которые, если все это не обман, наряду с нуклеином и белком образуют третью биохимическую фундаментальную тему клеточной структуры и центр для многих модификаций и производных особого рода. Ведь микрохимия в лучшем случае не в состоянии выйти за пределы концепции железосодержащих белков или нуклеинов.

В твоих неоднократных напоминаниях касательно ускорения публикаций, которые, разумеется, не лишены оснований, я, однако, четко вижу различие между нашими областями исследования и подходом к работе. Ты себе представляешь, что у меня имеется масса готовых материалов, включающих факты и наблюдения, которые я из-за какого-то каприза задерживаю в моем письменном столе. Для некоторых малых вещей это,

возможно, соответствует действительности. Но в главнейших пунктах ничего, однако, не готово. Работа по сперме, несмотря на то что, согласно Альтманну и Косселю, лососевая сперма представляется столь удобным материалом, была издавна попыткой бурить каменистую породу. Но ничего не опубликовано не из-за слишком малого числа фактов, а потому, что вещества еще не очищены, разделение еще недостаточно отчетливо проведено, количественное определение еще ненадежно. Ведь во всех случаях приходилось разрабатывать методы. Даже центрифугу в ее теперешней удобной форме пришлось сконструировать главным образом в интересах работы со спермой и с тех пор еще многое другое. Я поставил перед собой задачу действительно совладать с таким исключительным материалом, как лососевая сперма, проанализировать ее так, как это делается с минералами, с той же точностью и аккуратностью, несмотря на все коварство распадающихся составных частей. Эта цель, пожалуй, не вполне достигнута, но я все же думаю, что достаточно приблизился к ней; во всяком случае, едва ли какой-нибудь из существенных химических факторов смог от меня ускользнуть.

Я считал совершенно необходимым вместо вечной экспериментальной возни и неуверенного топтания вокруг да около предпринять на этом исключительно благоприятном объекте попытку наконец-то проникнуть в химическую структуру и ее отношение к морфологии настолько глубоко, как это позволяет состояние современной химии, не оставляя при этом никаких пустот или неясностей, никаких недоделанных во множестве вещей, в которых как раз и может быть заключено так много неизвестного, не допуская путаницы между исходными веществами и столь легко появляющимися продуктами их распада.

В противоположность ранее проведенным «кавалерийским разведкам» с помощью микрохимических реакций и более или менее интересным и сомнительным химическим препаратам, которые в качестве курьезов вытаскиваются путем изоляции из кучи X+Y+..., моим стремлением с давних пор было осуществление своего рода «артиллерийской атаки», которая в некотором смысле позволила бы выбросить врага с его укрепленных позиций. Ты должен будешь понять, что было бы скверной шуткой остановиться на половине пути.

Я придерживаюсь также того мнения, что для прогресса науки совсем не безразлично, пытается ли ученый сам связать установленные им факты с различными теоретическими вопросами — для этого, разумеется, должна быть подготовлена фактическая часть — или же предоставляет это стае натурфилософствующих писак.

Разумеется, мне также хорошо известно, как любому другому, что моя гистохимия является лишь предварительной работой для будущей биохимии. То, что я анализирую, как раз уже не обладает самыми существенными активными силами и свойствами, на которых и основана жизнедеятельность. Но в грубой химической дифференцировке этого Capita mortua на самом деле и состоит первое предварительное условие, первая основа, к которой пристраиваются все далекоидущие представления, которые носятся в моем мозгу в количестве, куда большем, чем мне бы

хотелось. Отдельные пробы в этом направлении я уже сделал, но это опять-таки сама по себе великая необозримая задача, касаться которой я на сей раз не могу.

LXXVIII [51*]

[Базель, 13 октября 1893 г.] Я теперь собираю материал еще от спермы форелей. Для теории наследственности интересно, удастся ли обнаружить у головок сперматозоидов маленькие, но уже заметные химические различия у этих двух столь близких видов животных. При этом я сталкиваюсь с фактом, что химики для таких малых различий проявляют еще мало понимания и располагают еще меньшими средствами для опознавания. Физическая химия в сравнении с другими разделами химии дает больше возможностей.

Моя работа по генезису спермы очень пострадала из-за снижения улова во время самого важного периода (15—30 сентября). Кое-что я все же собрал, теперь нужно ожидать результатов анализов. Вероятно, ни одно вещество в сперматоцитах неидентично тому, что позднее обнаруживается в сперме. С морфологической непрерывностью дело во всяком случае обстоит не так просто, особенно если из 3 веществ должны образоваться 4, а фосфор, сера, железо и азот перераспределяются совершенно своеобразным путем. Непрерывность следует искать не только не в форме, но даже глубже, чем на уровне химической молекулы. Она заключается в составляющих группах атомов. В этом смысле я отношусь к числу сторонников химического учения о наследственности á outrance [52*]. Но при этом следует вспомнить, что особенности химических соединений основаны на природе и интенсивности движения атомов и что в легко распадающихся биологических веществах интрамолекулярные движения атомов характеризуются в сравнении с инертностью молекулы в целом более высокой интенсивностью и самостоятельностью, с чем и связана расщепляемость.

Спекуляции Вейсмана и др. вымучивают полухимические понятия, которые частично неясны, а частично соответствуют устаревшему состоянию химической науки. Если, как это вполне возможно, белковая молекула состоит из 40 асимметрических атомов углерода, то это означает возможность существования 2^{40}, т. е. приблизительно биллиона изомеров. И это лишь одна разновидность изомерии, когда не учитываются изомеры азота и ненасыщенные валентности. Таким образом, для того чтобы объяснить требуемое учением о наследственности необозримое многообразие, моя теория может считаться более подходящей, чем любая другая [53*]. При этом можно себе представить все переходы от незаметных до самых крупных различий, для чего, правда, необходима интенсивная дискуссия проблемы.

LXXIX [54*]

[Базель, 27 ноября 1893 г.] Продолжаю прилежно работать над спермой. Из протамина мы получили очень интересные кристаллические продукты распада. При анализе нуклеиновой кислоты Альтмана (из дрож-

жей) мы получили довольно сильно отличающиеся от нуклеина спермы данные. Как только закончим это дело, я ему по этому поводу напишу.

В настоящий момент провожу анализ эфирного экстракта из крови лосося, откуда видно, что фосфор передвигается преимущественно в форме лецитина, который потом при образовании ядра и нуклеина распадается с образованием свободных жирных кислот и мыл и исчезает. Такова форма передвижения фосфора (также и в семенах растений). Все идет очень хорошо, но только чересчур медленно, несмотря на помощь.

LXXX [55*]

[Базель, 15 декабря 1893 г.] С моими делами по сперме я все больше влезаю в чистую химию. Да это и оказалось своевременным. Попутно я выяснил, что анализы нуклеина лосося и присланной мне в 1889 г. Альтманом нуклеиновой кислоты, которые я провел совместно с Гмелиным, являются единственными описанными в литературе элементными анализами.

При расщеплении нуклеина я получил уже 2, а при расщеплении протамина 3—4 кристаллических, хорошо охарактеризованных вещества. Дело как следует продвигается. Во всяком случае, опять слишком много нерешенных вопросов, и, для того чтобы это превозмочь, нужно вести такой уединенный образ жизни, какой я веду по примеру траппистов.

LXXXI [56*]

[Давос, 1 декабря 1894 г.] Ужас моего бессильного и беспомощного болезненного состояния ни в чем не осознается мной так ясно, как когда я вспоминаю о различных работах, которые более или менее созрели для публикации еще до моей болезни и в подготовке которых к изданию принимают участие многие мои сотрудники. Мне ведь не нужно быть совершенно здоровым, а лишь перейти в состояние бестемпературного выздоравливающего, как это мне твердо обещали из месяца в месяц, для того чтобы лежа в шезлонге работать над окончательной редакцией. Но и это не хочет наступить, и создается впечатление, как будто бы лихорадка хочет прожить столько же, сколько я.

По моему настоятельному желанию Зутер и Вейон с большим усердием и аккуратностью повторили работу Лангенбрука по крови и собрали около 26 случаев у человека. И с кроликами они много потрудились, хотя, как в последнем году, их преследовали различного рода неудачи. Результаты за малым исключением отчетливо положительны, возрастают по мере перехода к Лангенбруку и скоро снижаются по возвращении в Базель. Метод подсчета по надежности, точности, а также по опытности исследователей достиг своей наивысшей точки; вряд ли будут опубликованы в скором времени такие серии подсчетов кровяных телец, которые гарантировали бы большую надежность. Таким образом, ничто не вынуждает нас в важном вопросе о пороге раздражения для этой реакции

крови опираться на наблюдения господ Вольфа и Кёппе. Этот удивительный физиологический факт вносит свет и тень в столь большой круг физиологических вопросов, что с помощью этого ведущего факта могут быть расширены или видоизменены наши представления о многих предметах. Однако считается самонадеянным на основании одного факта, каким бы он ни был достоверным, сейчас же делать законченные выводы. В таких случаях особенно важно сначала установить с несомненностью все простые, основополагающие факты, и это удалось сделать моим ученикам.

Другую, не менее удручающую меня главу составляют полученные до моей болезни данные, результаты работы по сперме лосося, с которыми при помощи моего ассистента д-ра Гмелина за последние полтора года мы довольно хорошо продвинулись. На основе имеющегося в готовности материала я смог бы при сколько-нибудь улучшившемся состоянии здоровья написать здесь следующие статьи для публикации.

1. Короткая заметка в журнал Гоппе-[Зейлера] о приготовлении чистой нуклеиновой кислоты из спермы лосося с очень полными сериями точных элементных анализов. (Как приложение будут даны анализы дрожжевых препаратов Альтмана.)

Насколько мне известно, до момента моего заболевания нигде не были опубликованы анализы ни одной нуклеиновой кислоты любого происхождения, кроме моей, выполненной с помощью несовершенных методов, небезупречной работы по сперме от 1874 г. Коссель лишь утверждает: «Получение чистых препаратов сопряжено с трудностями...» Мне представляется небезразличным вопрос о том, чтобы хотя бы кое-что узнать о свойствах нативных веществ, и в этом смысле эта нуклеиновая работа, представляющая результат сочетания многочисленных экспериментов и накопленного за многие годы опыта, не могла бы быть так скоро превзойдена. Наконец, нуклеин оказался столь устойчивым при сжигании и вместе с тем столь гигроскопичным, что нам пришлось разработать собственные методы как для сушки, так и для сжигания, позволившие получить совершенно надежные результаты. Все это потребовало огромных затрат времени.

О свойствах, соединениях и т. д. чистого нуклеина я могу сообщить лишь фрагментарные сведения. Здесь болезнь перерезала нить исследования.

2. Сообщения в Физиологическом центральном журнале о сперматозоидах лосося. Морфологическое и химическое, данные о составе хвостов, сравнение элементного состава головок с соответствующими данными для чистой нуклеиновой кислоты, кое-что об истории лецитина, наблюдение за ним, начиная от ожиревшей лососевой мышцы через кровь до незрелого семенника лосося. Там фосфорная кислота используется для образования нуклеина, отщепившиеся жирные кислоты обнаруживаются в огромных количествах в составе мыл. Позднее, но лишь в протоплазме, а не в ядре, снова образуется лецитин. Головки не содержат ни следа лецитина, а хвосты — огромные количества, так что и здесь лецитин является продуктом протоплазмы. Это не продукт дегенерации нуклеина, а резерв-

ное вместилище фосфорной кислоты для физиологического синтеза нуклеиновых кислот; единственный путь для того, чтобы избежать глубокого нарушения соотношения оснований и кислот в тканях при транслокации фосфорной кислоты. Мои дальнейшие результаты по изучению незрелых семенников так исключительно своеобразны и еще настолько отрывочны, что пока я не могу ничего опубликовать. Здесь мы попадаем в область сплошных фактов, которые не удается увязать ни с чем, во всяком случае ни с чем известным, и где пути для дальнейшего поиска нелегко найти. Ибо не следует забывать, что химик может заниматься лишь поисками веществ, существование которых он считает вероятным или возможным, и в этом направлении заострены и его методы. Если указаний недостаточно, тогда путь во всяком случае пролегает через множество напрасных экспериментов.

3. Далее имеется значительный, полученный совместно с Гмелиным материал, о до сих пор еще недостаточно точно установленном составе протамина и продуктах его расщепления. Мы получили для двух новых оснований прекрасные кристаллические соединения с нашатырной платиной или медные соединения и частично проанализировали их. Для дальнейшей работы имеется превосходный материал. В Штуттгарте Гмелин еще немного продвинул эту работу, но потом он принял должность в Салерно и проезжая оставил свои препараты в Везалиануме в Базеле. И ему, разумеется, не терпится прочитать что-либо о себе в напечатанном виде.

4. Наконец, я приготовил путем расщепления лососевого нуклеина изумительно кристаллизующееся в пластинках вещество, состав которого до известной степени аналогичен косселевскому тимину. Однако имеются и глубокие различия. И здесь проанализировано множество препаратов.

Главный результат затраченного мной вместе с толковым и аккуратным аналитиком Гмелиным времени выразился в составлении письменного точного описания в деталях всех использованных в наших работах аналитических методов и того, как эти методы были частично развиты дальше и насколько они себя оправдали.

LXXXII [57*]

[Давос, 15 июля 1895 г.] Современное обучение зоологии, когда начинающему самые первые крохи фактического материала преподносятся облеченными в морфологические догмы и теории и тесно сплавленными с ними, представляется мне каким-то ужасом. Тот, кто хочет стать здравомыслящим зоологом, должен пройти физиологию и главным его наставником должен быть Мильн-Эдвардс. Придет еще то время, когда люди этой школы возьмут верх над ограниченными морфологами. Карл Фогт обладал тем здоровым свойством, что он никогда не утрачивал контакт с физиологическим образом мышления. Поэтому его ученики приобретают решительное преимущество по отношению к ученикам других современных школ.

LXXXIII [58*]

[Давос, 6 августа 1895 г.] При всем признании ценности исследований Альтмана я с давних пор относился к ним с некоторой осторожностью. Я имею в виду не экспериментальные наблюдения, изящество и методические успехи, которые высоко оцениваю. Также и не приложение этих достижений к объяснению смежных физиологических процессов (секреция, резорбция жира, сократимость и т. д.), хотя в каждом из этих отдельных случаев пока еще не высказываю окончательного суждения. В качестве материальных субстратов для разделения жизнедеятельности клетки некоторые из этих гранул могут иметь большое значение в индивидуальной жизни. Но Альтман в своих заключениях идет дальше. Он требует для своих биобластов имманентности, что означает продолжение существования через поколения, морфологической непрерывности в зарождении и развитии.

В такой развитой форме я считаю теорию бионтов Альтмана ложной, и притом на основе моих положительных наблюдений и теоретических размышлений. Нуклеиновые гранулы ядра, наверное, должны признаваться Альтманом как бионты высокого уровня. Но в процессе развития семенника лосося происходит следующее:

1. Появляются зернистые клетки семенника с ядром.

2. Набухание ядра за счет материала клетки, который в конце концов занимает лишь малое пространство, и разрыхление, по-видимому, набухших нуклеиновых зерен, выстраивающихся рядами наискосок.

3. Все растворяется до стекловидной гомогенной массы с очень умеренным светопреломлением; только лишь тонкий поверхностный слой отчетливо отделен от этой массы. Многоядерные клетки показывают эту же картину, но можно еще долго наблюдать области отдельных ядер по их наружным очертаниям.

Могут сказать, что Альтман со своими прокрашивающими жидкостями эту стекловидную массу разложит на гранулы. Но превращение носит химический характер. Если прежде нуклеин при добавке соляной кислоты собирался в плотный комок, то теперь при тех же условиях все растворяется вплоть до съеживающейся в маленький комочек поверхностной пленки. Очевидно, произошло связывание нуклеина с другими веществами ядра с образованием растворимого в соляной кислоте соединения, которое затем вновь будет распадаться.

Не существует морфологической непрерывности нуклеиновых гранул, но существует только химическая. Гранулы Альтмана могут в качестве носителей определенных функций играть важную роль в индивидуальной жизни отдельной клетки, но они представляют собой продукты дифференциации при развитии отдельной клетки и в лучшем случае принимают участие в процессе деления. Их существование как морфологических отдельностей время от времени прерывается. Не следует лишь искать всегда все в моменте полового зачатия, здесь, напротив, морфологическая самостоятельность отдельных частей, по-видимому, сохраняется. И в литературе о созревании яйца содержится многое, что может иметь к этому

отношение и что в зависимости от характера изменения представлений будет помещено на первое место или же отодвинуто в тень.

Это гигантские по масштабу принципиальные вопросы, решение которых будет найдено в двадцатом веке в ходе борьбы между морфологами и биохимиками. Наследуется ли только субстанция или же форма как таковая передается по наследству. Под формой я понимаю вообще всякое замкнутое от внешней среды образование с внутренней морфологической структурой вне зависимости от того, доступна ли она сначала нашему анализу или нет.

РАЗЛИЧНЫЕ ПИСЬМА ОБЩЕГО СОДЕРЖАНИЯ. 1871—1895. ПИСЬМА LXXXIV—LXXXVI

ЗНАЧЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ РАБОТ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

LXXXIV [1]*

Для меня лично является неприемлемым такой метод работы, когда, сталкиваясь с какой-либо сколь угодно сложной областью явлений, ученый проводит описание клубка феноменов, а после этого пытается их объяснить.

Я придерживаюсь того мнения, что каждое сложное явление мира живого может быть понято только путем синтеза сведений, полученных при изучении менее сложного, а это последнее, в свою очередь, на основании данных о чем-то еще более простом. Для того чтобы проникнуть далеко в глубь таких основных проявлений жизнедеятельности, как рост клеток, сократимость и т. д., надо прежде всего обнаружить эти процессы там, где они осуществляются в самых простейших условиях. Эти самые простые случаи сами по себе уже настолько сложны, что надежда на раскрытие их природы очень невелика. Задача подбора для каждой фундаментальной проблемы таких простейших и к тому же доступных для изучения вариантов уже сама по себе сопряжена с большими трудностями. Наступило время, когда физиолог должен покинуть свой трон и отправиться за милостыней к зоологам и ботаникам.

ЗНАЧЕНИЕ ИНТУИТИВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

LXXXV [2]*

При первом ознакомлении с неизвестными областями науки, когда еще отсутствуют элементы, необходимые для четкой постановки вопроса, и в случае, когда нет желания выждать, пока путем спокойной предварительной работы все вспомогательные научные вопросы обычным образом разрешатся сами собой, на первый план выступает своего рода деятельность в сфере фантазии, которую можно назвать «мысленным по-

строением свода». Суть этой деятельности заключается в том, чтобы из малочисленных, не пригнанных друг к другу строительных блоков наметить главные линии, развертывание которых не столько путем логических заключений, сколько при помощи своеобразного художественного чувства гармонии позволяет составить первый набросок целого, хотя бы и в форме ориентировочных контуров. Рассматривая затем этот сделанный набросок, можно определить место начала работы. Стремление к такого рода мышлению и способность к нему несвойственны натурам со средними способностями. У таких людей попытка фантазировать очень легко переходит в склонность к спекуляции, если только они сами не начинают сознавать, что эти первые наброски должны быть стерты после того, как проложена дорога для эксперимента.

Не уверен, четко ли я формулирую свою мысль, но все время вспоминаю о Либихе, который, пользуясь самыми скудными указаниями, создал в главных чертах свое учение о питании. Хотя там и имеется много ошибочных выводов, но все же чувствуется, что автора твердо вела идея о том, что процесс на самом деле должен быть достаточно простым; в результате направленное им развитие физиологии обмена веществ смогло быть осуществлено и относительно второстепенными учеными, но хорошими исполнителями.

Мне кажется, что недостатком современной физиологии, если исключить деятельность таких людей, как Либих, является недоверие к такому предварительному синтетическому подходу в целом и даже недоверие к нему, часто наблюдаемое у более молодого поколения. Заблуждения морфологии, в которых повинно это поколение ученых, невероятно способствовали такому отношению, но так или иначе — жаль! На примере сравнительной анатомии, от которой так много позаимствовала ранняя физиология, можно прекрасно проиллюстрировать, как формируется тонкая интуиция и твердое суждение теперь, в век кажущейся точности и что в области живого может считаться возможным или невозможным.

О ЗНАЧЕНИИ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ДЛЯ ЦЕЛОСТНОСТИ ДУХОВНОЙ ЖИЗНИ

LXXXVI [3*]

Незаметно все мышление постепенно зажимается в границы трафаретного будничного школьного преподавания, и человек, каким бы ни был он способным и целеустремленным в молодости, превращается в более или менее хорошего школяра, для которого его наука становится чем-то вроде дойной коровы и повинности, в то время как он при этом еще способен заниматься разными приятными или даже интересными маленькими филистерскими увлечениями. Кто рожден филистером, может этим удовлетвориться. Но у того, кому это несвойственно, постепенно начнется внутренний разлад. Процесс духовного засушивания вызовет в его душе волну протеста, но лишь немногие избранные люди находят в себе достаточно сил и смелости, чтобы среди мучительных трудностей учительства

обратиться к единственному средству, а именно к самостоятельной исследовательской деятельности, хотя бы в очень узкой области. И, вероятно, каждый человек, сделавший когда-либо попытку самостоятельно работать, не сможет легко расстаться с чувством высшего удовлетворения мужчины, которое он ощутил, предельно напрягая свои духовные и умственные силы. Разумеется, что как стимул нельзя не учитывать и стремление к достижению почетного положения в обществе, особенно когда это может доставить радость близким людям. Однако спросим любого большого исследователя, спросим его в момент разгара борьбы и узнаем у него, какая сила так гонит его вперед, не давая передышки, толкая все дальше и дальше. Вряд ли он назовет какие-либо внешние цели, скорее всего речь пойдет о страсти охотника, солдата, шахматиста, привлекательности борьбы с лукавством и капризами явлений живой природы или, например у математика, с законами мышления собственного духа...

...Странная вещь — это упование на собственные силы. Тот, кто воображает, что может все играючи превзойти, тем самым лишь демонстрирует свою неспособность даже оценить трудности. Напротив, как раз тот становится в конце концов мастером своего дела, кто умеет поставить перед собой великую задачу, хотя путь для ее решения ему сначала представляется весьма неясным, но который не отступает, даже когда, казалось бы, потеряна всякая надежда на успех. По мере продвижения работы вперед увеличивается сила и возрастает уверенность в себе. На основании своих наблюдений многих людей и опыта знакомства с различными специалистами в моей области я пришел к заключению, что большинство легко и гладко работающих, хорошо воспринимающих и быстро продуцирующих ученых растрачивают себя и теряют время и, во всяком случае, не достигают того, чего они могли бы достичь именно из-за недостаточной концентрации интересов в области крупных задач; именно благодаря силе воли и становятся возможными большие научные успехи, разумеется, если человек одарен соответствующими способностями.

ПРИЛОЖЕНИЯ

КОММЕНТАРИИ

ТРУДЫ

[1]* (с. 9). Перевод статей Ф. Мишера дан по посмертному сборнику статей: Die Histochemischen und Physiologischen Arbeiten von Friedrich Miescher. Leipzig: Verlag von F. C. W. Fogel, 1897. Bd. 1. 138 S.; Bd. 2. 543 S.

Текст этого издания был просмотрен и отредактирован В. Гисом. В работе над сборником принимали участие непосредственные сотрудники и ученики Ф. Мишера по Базельскому университету. На титульном листе сборника было указано: «Собрано и издано его (Ф. Мишера.— *А. Ш.*) друзьями».

В сборник включены не только статьи, опубликованные при жизни Ф. Мишера, но и некоторые дополнения к статьям, сделанные самим Ф. Мишером (но не публиковавшиеся при его жизни), В. Гисом и коллегами Мишера (прежде всего О. Шмидебергом). Эти дополнения будут отмечены в комментариях.

Одним из самых близких друзей Ф. Мишера был Освальд Шмидеберг (1838—1921), ученый с мировым именем, поддерживающий тесную связь с Мишером вплоть до смерти последнего (подробнее о Шмидеберге см. с. 267).

В сборник вошли также работы учеников Ф. Мишера, выполненные под его руководством, под непосредственным наблюдением или при его участии. Переводы этих текстов, так же как нескольких, сохранивших лишь чисто историческую ценность работ Ф. Мишера, нами не включены в данное издание.

В посмертный сборник не были включены все работы Ф. Мишера. Так, в него не вошли публикации, увидевшие свет в «Трудах Немецкого химического общества» (в частности, его работа по протамину). В. Гис объяснил исключение этих работ из сборника тем, что они были опубликованы в доступных и широко распространенных изданиях, в то время как остальные работы были опубликованы в малотиражных сборниках в Германии и Швейцарии и давно уже недоступны читателям.

Данная статья Ф. Мишера опубликована в трудах Лаборатории физиологической химии Тюбингенского университета, изданных под редакцией Ф. Гоппе-Зейлера: Medicinisch-chemische Untersuchungen. 1871, H. IV, S. 441—460.

Эксперименты, описанные в работе Ф. Мишера «О химическом составе клеток гноя», выполнены значительно ранее ее опубликования. Ф. Гоппе-Зейлер при появлении работы в печати снабдил ее таким примечанием: «Исследования, которые описывает господин Мишер в этой статье, были проведены в лаборатории Тюбингенского замка с осени 1868 г. до осени 1869 г. Вскоре после этого статья была передана мне для опубликования в этой тетради, выход в свет которой задержался по ряду непредвиденных обстоятельств».

После окончания Базельского университета Ф. Мишер в 1868 г. отправляется в Тюбингенский университет, где сначала стажируется в лаборатории Адольфа Штрекера (1822—1871), химика, известного своими исследованиями различных природных соединений, получившего первую синтетическую аминокислоту (аланин). У него Мишер совершенствуется в области органической химии. Затем с осени 1868 г. работает в организованной Ф. Гоппе-Зейлером первой в мире специальной биохимической лаборатории. Здесь он и начал свои исследования химического состава клеточных ядер. Материалом он избрал лейкоциты, обладающие крупным, хорошо оформленным ядром. В работе описано, каким образом он получил достаточно материала для своей работы.

[2]* (с. 9). Свою работу (он считал, что прошел лишь первый этап) Мишер закончил в 1869 г. Осенью этого года он планировал поездку в Лейпциг для стажировки в Физиологическом институте Лейпцигского университета у Карла Людвига (1816—1895) — крупнейшего немецкого физиолога, лидера внедрения новых экспериментальных методов в физиологию и, что не менее важно для дальнейшей научной судьбы Ф. Мишера, автора своеобразной «редукционистской» программы.

Эта стажировка вынужденно прервала работу Мишера, который, оформив материал в виде статьи, направил ее Гоппе-Зейлеру. Последний поручил проверку важной и перспективной работы стажеру из Венгрии Палу Плосу (1844—1902), а также проверял данные Мишера лично.

Материалы всех работ о нуклеинах Гоппе-Зейлер опубликовал в одном из томов сборника трудов своей лаборатории. Этот сборник был своеобразным предшественником «Zeitschrift für physiologische Chemie» — основанного им первого биохимического журнала, который начал выходить в 1877 г.

3* (с. 12). Имеется в виду книга: *Hoppe-Seyler F.* Anleitung zur physiologische-chemischen Analyse. Berlin, 1980.

4* (с. 15). Дьяконов Константин Сергеевич (1839—1862), русский врач и биохимик, известный своими работами по лецитину (он впервые выделил это вещество и описал его свойства). Он также работал в лаборатории Ф. Гоппе-Зейлера, но в 1867 г. (См.: *Анисимов В. Е.* К открытию К. С. Дьяконовым соотношения лецитина и холина.— Казан. мед. журн., 1961, № 1, с. 90—92).

5* (с. 18). Само название этого раздела показывает, что Мишер был совершенно уверен, что выделил какое-то новое вещество, которое входит в состав ядер клеток. Очень важно, что Мишер не сомневался и в правильности избранной методологии: он считал возможным выделение ядер из клеток, полагая их достаточно определенным и стабильным образованием (ученый прямо называет ядро «структурой»), выделение и изучение которого вполне возможны химическими методами. Это было смелое допущение, так как среди цитологов не было единства во взглядах на ядро и его физическую природу. Совсем не беспочвенными казались представления о нем как о жидком образовании, некоей белково-лецитиновой капельке, форма которой поддерживается лишь относительно плотной оболочкой-мембраной, а то и вообще гидрофобностью ядра в окружающей насыщеной водой протоплазме. Нарушение мембраны-оболочки при различных химических воздействиях привело бы, по их представлениям, к безусловной потере индивидуальности клеточных ядер, смешиванию их веществ с веществами протоплазмы, к загрязнениям, делающим бессмысленными все остальные процедуры. Часть цитологов вообще считала, что белково-жировая капелька — ядро — при этом смешается с окружающей водной фазой — протоплазмой.

Таким образом, Ф. Мишер выступил и как один из пионеров препаративной цитохимии — направления, сыгравшего чрезвычайно важную роль в развитии биологии в середине XX в., заложившего наряду с биохимией в целом основы триумфов молекулярной биологии в 50—60-х гг. XX в. Этот подход он позднее, в 1874 г., с успехом применил и к изучению протаминов.

6* (с. 19). О муцине Э. Эйхвальда как своеобразном «промежуточном» белково-полисахаридном комплексе много спорили. Этот «муцин» сначала был найден лишь в одном объекте — патологически перерождающихся яичниках — заболевании редком и с неизвестной в те годы этиологией (см.: *Эйхвальд Э.* О коллоидном перерождении яичников. СПб., 1863. 63 с.).

Пример «муцина» Эйхвальда показывает, сколь неопределенной была проблема выделения новых классов веществ природного происхождения, и одновременно приоткрывает мотивы осторожного подхода Ф. Гоппе-Зейлера к открытию Ф. Мишера и постановки им проверочных работ.

7* (с. 21). Таким образом, Ф. Мишер посчитал, что полученное им вещество является типичным веществом ядер клеток. Это очень важное обстоятельство. Оно свидетельствует о том, что ученый сразу же отверг представления о полностью неспецифическом характере «химического строения» клеточных ядер, о возможности построения его из тех же веществ, что и протоплазма клеток, но «собранных в ином порядке» в чисто коллоидное образование. Это воззрение сильно отличалось как от «биоколлоидальных» концепций строения протоплазмы и ядра, так и от представлений об исключительной роли белков как таковых в построении абсолютно всех биологически значимых компонентов клеток.

8* (с. 22). Эти предположения основывались на господствовавших в то время концепциях разложения белковых веществ, начало которым положили работы К. Лемана, Г. Мейснера и их последователей (в число которых входил и Ф. Гоппе-Зейлер) в 50—60-х гг. XIX в. (см.: *Шамин А. Н.* История химии белка. М.: Наука,

1977, с. 93—103). Это предположение Мишера также очень интересно, так как в нем можно усмотреть допущение возможности построения из пептонов (т. е. неспецифических компонентов разложения белка) не только белковых веществ, но и «нуклеинов».

9* (с. 22). Это свидетельствует о высокой методологической культуре Мишера как химика. Неумеренное увлечение определениями элементного состава белков и вычислениями их эмпирических формул привело, как известно, к возникновению «тупиковой» ситуации в химии белка в 60-х гг. XIX в. Увлечение элементными анализами было характерно в те годы именно для биологов, осваивающих химические методы исследования биологических объектов. Мишер же прекрасно понимал, что более важной в данный момент является задача препаративного выделения новых веществ биологического происхождения и идентификация их с теми или иными компонентами клеток — это была уже программа рождающейся биохимии (статической биохимии в ее классической фазе развития).

10* (с. 22). Из этого можно заключить, что Мишер первоначально рассматривал свой «нуклеин» как фосфорсодержащий белок или белковоподобное вещество. Позднее он отказался от этого предположения, но оно было воспринято (во всяком случае, не отброшено) многими его последователями. Отсюда возник и ряд заблуждений в исследованиях «нуклеинов» в конце XIX — начале XX в. Но необходимо помнить, что в 60-е гг. прошлого века понятие «белки» еще было лишено подлинно химического содержания — еще не было известно, действительно ли белки являются химически индивидуальными веществами или же это смеси более или менее определенного состава. Но в то же время с белками уже связывали самые интимные проявления жизнедеятельности. Именно в конце 60 — начале 70-х гг. XIX в. прозвучали те высказывания Э. Пфлюгера, А. Кекуле и К. Шорлеммера, которые использовал Ф. Энгельс при работе над «Анти-Дюрингом» (см.: *Шамин А. Н.* Химический синтез белка (исторический очерк). М.: Наука, 1969. 116 с.; *Иванов В. Т., Шамин А. Н.* Путь к синтезу белка. Л.: Химия, 1982. 175 с.).

11* (с. 24). Это один из основных выводов препаративной части работы Мишера — признание возможности существования новых веществ, заслуживающих того, чтобы поставить их рядом с белками. Это важнейший вывод, учитывая уровень биохимических исследований конца 60-х гг. XIX в.

12* (с. 24). Этот вывод еще более поразителен. Действительно, понадобилось почти столетие, точнее 70 лет, прежде чем Т. Касперсон сумел заметить непосредственную связь этих феноменов — деления клеток и накопления нуклеиновых кислот (точнее, именно фосфора нуклеиновых кислот) в тканях. На прямую связь нуклеиновых кислот с процессами биосинтеза белков указывали и эксперименты А. Н. Белозерского, Б. В. Кедровского и Ж. Браше.

Естественно, что объяснения причин этого явления Мишером были неверны, но сам факт, что он подошел к возможности выдвижения гипотез о роли нуклеиновых кислот в столь важных процессах, поразителен.

13* (с. 25). Очень важно, что Мишер понимал, что динамика превращений изучаемых им веществ непосредственно связана с «интимными процессами клеточного роста».

1* (с. 25). Статья опубликована в «Medicinisch-chemische Untersuchungen», 1871, H. IV, S. 502—509.

Эта работа интересна как попытка расширить число объектов, из которых можно получить нуклеины. Но основана она была на неверных предпосылках, и Мишер пришел к не совсем правильным выводам.

2* (с. 29). Этот вывод Мишера был неправильным. Однако мысль получила дальнейшее развитие, и в последующие полвека постоянно предпринимались многочисленные попытки выделить и описать новые «нуклеины» из объектов, где их заведомо быть не могло, например, из белков молока (в заблуждение исследователей здесь вводило большое содержание фосфора в казеине). Примером таких исследований могут служить работы Н. Н. Любавина (Исследования над нуклеинами молока. 1, 2.— ЖРФХО. Отд. хим., 1879, т. 11, с. 221—243; 267—280) и Л. Н. Шишкова (О химическом составе молока.— ЖРФХО. Отд. хим., 1879, т. 11, с. 189—197). Интересно, что эти работы были выполнены под прямым влиянием исследований Ф. Мишера.

Н. Н. Любавин одновременно с ним стажировался в лаборатории Ф. Гоппе-Зейлера и принимал участие в проверке данных швейцарского ученого.

Резкий всплеск количества публикаций по нуклеинам, который отмечается в конце XIX в., в значительной мере обусловлен сообщениями о таких ложных открытиях, а также последующими различными спекуляциями о функциях и свойствах подобных «нуклеинов».

3* (с. 29). «...den nicht in den optischen Eigenschaften, sondern in der chemischen Natur eines Gebildes wurzelt doch gewiss seine Rolle bei den molecularen Vorgängen des Zellenlebens»,— это одна из самых часто повторяемых цитат из работ Ф. Мишера, из которой отчетливо видна его биохимическая программа, направленная на расшифровку молекулярных механизмов функционирования клеток.

4* (с. 30). Ф. Мишер имеет в виду работу, выполненную в лаборатории Ф. Гоппе-Зейлера в Тюбингене и опубликованную в «Трудах» лаборатории.

5* (с. 31). Эту работу Ф. Мишер выполнил в Базельском университете сразу после возвращения из Тюбингена по «горячим следам» своего открытия. При этом, как видно из его переписки, он отложил работу с дрожжевыми клетками (см. раздел «Научная переписка»).

1* (с. 31). «Дополнительные замечания» были посланы Ф. Мишером Ф. Гоппе-Зейлеру одновременно с предыдущей статьей в октябре 1870 г., однако увидели свет лишь в 1897 г. в «Гистохимических и физиологических трудах», где они были опубликованы В. Гисом. См. также раздел «Научная переписка», письма XII и XIII и комментарии к ним.

2* (с. 31). Интересно, что, проверяя данные Мишера, Ф. Гоппе-Зейлер так же, как сам Мишер, не смог отказаться от сравнений нуклеинов с белками или даже от отнесения нуклеинов к классу белков, считая их фосфорсодержащими белками. Эта расплывчатость характеристик сохранялась до работ Альбрехта Косселя (1853—1927) и Германа Штейделя (1871—1967), несмотря на появление работы Рихарда Альтмана (1852—1900) (*Altmann R.* Ueber Nucleinsäuren.— Arch. Anat. Physiol., 1889, p. 524—536), разработавшего надежную методику выделения новых веществ, окончательно утвердившего представление о них как о многоосновных кислотах и предложившего термин «нуклеиновая кислота».

3* (с. 32). Это замечание также очень важно, так как свидетельствует о понимании Мишером универсальности нуклеиновых кислот. Однако в эти годы он публиковал лишь гипотезы об участии нуклеинов в обмене веществ, прежде всего фосфорсодержащих.

4* (с. 32). Ф. Мишер впервые формулирует биохимический критерий определения ядра и ядерного материала. Эта проблема обсуждалась еще в 40-х гг. XX в., и подобный подход еще нуждался в оправдании (см., например: *Белозерский А. Н.* О ядерном веществе у бактерий.— Микробиология, 1939, т. 8, вып. 5, с. 504—513; см. также: *Белозерский А. Н.* Биохимия нуклеиновых кислот и нуклеопротеидов.— В кн.: Избранные труды. М.: Наука, 1976, с. 52—65).

5* (с. 33). Это утверждение также имеет программный характер. Оно полностью соответствует дальнейшему развитию исследований строения нуклеиновых кислот.

1* (с. 33). Работа опубликована в журн.: Verhandlungen der Naturforschenden Gesellschaft zu Basel, 1874, Bd. VI, H. 1, S. 138—208.

2* (с. 38). После лейкоцитов молоки лосося оказались вторым объектом, из которого Ф. Мишер сумел выделить нуклеиновую кислоту. И в том и в другом случае важную роль в выборе объекта сыграла его биологическая подготовка и широкая эрудиция. Химическая же подготовка позволила разработать эффективные препаративные методы.

3* (с. 43). Ф. Мишер сразу понял природу выделенного им вещества. Если учесть, что под «весьма богатым азотом органическим основанием» он понимал протамин, открытый им в процессе этого исследования, то очевидно, что приведенная формулировка относится к нуклеопротамину, что имеет место и на самом деле. Таким образом, Мишеру принадлежит честь открытия не только нуклеиновых кислот, но и протаминов и нуклеопротеидов. При этом он понял, что это вещества постоянного состава и, следовательно, определенного строения. Правильно он определил и характер

соединения двух компонентов в нуклеопротеиде (конечно, для уровня науки своего времени).

4* (с. 46). При повторной публикации в «Гистохимических и физиологических трудах» О. Шмидеберг сделал следующее замечание: «Указание о том, что представленным выше анализам, учитывая наличие хлорида платины, соответствует приведенная формула, не вполне понятно. Если вычесть общее количество платины и хлора, то получатся более высокие проценты, чем те, которые дает автор. Формула двойной платиновой соли, рассчитанная непосредственно из найденных средних значений, приводится в статье о химическом составе молоки лосося».

Нечего и говорить, что вычисленные формулы протамина были и в том и в другом случае далеки от действительности. Это было лишь приближенное определение пропорций отдельных элементов в данном веществе.

5* (с. 51). В литературе часто можно встретить утверждение, что Мишер не сделал заключений о природе нуклеина, в частности, что он ничего не знал о его кислотных свойствах. Однако, мы видим, что Мишер совершенно точно определил нуклеин как кислоту, при этом отметил ее четырехосновность, что можно рассматривать как предпосылки формирования тетрануклеотидной гипотезы Ф. Левина. Однако эмпирическая формула нуклеина была неверна, но это неудивительно, так как трудно было ожидать, что Мишер сразу получит чистый препарат нуклеиновой кислоты (нуклеиновая кислота реально получалась им в деполимеризованной форме и ни о какой химической индивидуальности препаратов речи, конечно, идти не могло).

6* (с. 62). Очень важно отметить, что Ф. Мишер использовал протеолитические ферменты не только с целью деструкции компонентов клеток, но с явно препаративными целями — для очистки препаратов от посторонних примесей (в данном случае белковых). Этот прием позволил ему сделать заключение о том, что в ядрах клеток содержатся какие-то компоненты, отличающиеся от обычных белков, или вообще вещества небелковой природы.

7* (с. 66). Жюль Пикар (1840—1933) не только предоставил Ф. Мишеру помещение и оборудование своей лаборатории, но и оказал содействие в работе. Он провел по просьбе Мишера очень важное исследование. Он показал, что при обработке кислотой нуклеиновой кислоты из спермы лосося образуются гуанин и гипоксантин (саркин). Эти вещества давали положительную мурексидную реакцию (основную в то время пробу на определение мочевой кислоты). Пикар считал, что положительная мурексидная реакция, которую описал Мишер, связана с нуклеиновой, а не протаминовой частью нуклеопротаминового комплекса. Это была первая попытка проникновения в тайну строения нуклеиновых кислот (*Piccard Jules.* Uber Protamin, Guanin und Sarkin als Bestandtheile des Lachsspermas.— Ber. chem. Ges., 1874, Bd. 7, S. 1714—1719).

8* (с. 68). Очень интересен строй умозаключений Мишера. С одной стороны, он сразу же связал свой «нуклеин» с процессами оплодотворения, т. е. допустил существование специфических биологических функций для одного из химических компонентов ядра сперматозоида. С другой стороны, он оговаривает: «Конечный эффект обусловлен не какой-либо одной частью, а всей клеткой в целом, совместным действием всех ее частей». Но тут же, абзацем ниже, он говорит и «повседневно наблюдаемом наследовании потомками родительских признаков».

9* (с. 69). Ф. Мишер не знал о работе Г. Менделя. Вместе с тем для понимания предпосылок формирования генетики сам факт постановки подобных вопросов биохимиками очень показателен. Можно утверждать, что оба корня молекулярной генетики (да и генетики вообще) появились практически одновременно: в 1865 г. опубликована работа Г. Менделя, в 1869 г. открыты нуклеиновые кислоты, а в 1871—1874 гг. Ф. Мишер начал задумываться над биохимическими основами процессов оплодотворения и передачи наследственных признаков.

10* (с. 69). Этот абзац свидетельствует, что получившее некоторое распространение утверждение, будто Мишер сразу сформулировал представление о существовании «вещества оплодотворения» или даже «вещества наследственности» и опубликовал свой вывод, неверно. В работах 1871—1874 гг. он не поднялся над широко распространенными механистическими толкованиями этих процессов. Вместе с тем и это парадокс развития биологии во второй половине XIX в., его рассуждения о «механизме, генерирующем и преобразующем движение», сочетались с подчеркиванием

значения целостности клетки для реализации процесса оплодотворения и передачи наследственных признаков. Дальнейшее развитие биологии показало, что отказ от проникновения в биохимические механизмы этих процессов был неперспективен. Понимание этого факта позволяет более правильно оценивать место редукционистских программ в развитии биологии. Они, безусловно, объективно содействовали прогрессу экспериментальной биологии и, накапливая новый эмпирический материал, создавали предпосылки дальнейшего прогресса теории, что и имело место на самом деле в 40—60-х гг. XX в.

Однако уже в 1858 г. В. Клетцинский выделяет как самостоятельные направления в рамках физиологии биохимию и биофизику (по-видимому, он был и создателем этих терминов), хотя под биохимией он скорее понимал клиническую химию, а под биофизикой — использование физических приборов в диагностике. В 1877 г. Ф. Гоппе-Зейлер выдвинул программу оформления биохимии как самостоятельной дисциплины. Поэтому при изучении творчества Мишера важно понять, не является ли его отрицание специфической роли нуклеиновых кислот в процессах оплодотворения и передачи наследственных признаков данью давлению, которое оказывал «антимеханицизм» на «редукционистов». Не нужно при этом забывать, что сам Мишер был учеником Гоппе-Зейлера, содействовавшего важному редукционному шагу — формированию биохимии, и К. Людвига — автора знаменитой «редукционистской» программы своей физиологической школы. Подробнее см.: *Janko Jan.* Vznik a rozklad mechanistické koncepce ve fysiologi.— Práce z dějin přírodních věd, 5, Praha, 1975. 382 l.

11* (с. 76). Очень интересно, что Мишер с явным удовлетворением отмечает это «примечательное для гистолога признание». Оно свидетельствовало о глубокой неудовлетворенности гистологов и цитологов методологическими перспективами, которые рисовались им на пути следования «классическим» принципам описательной биологии.

12* (с. 76). См. примечание к с. 32. Здесь Мишер делает шаг уже к пониманию значения функциональных характеристик компонентов клетки. Необычайно интересен факт, что Мишер тут же упоминает «нуклеиновые тела» и подчеркивает их способность «обособляться от протоплазмы», существовать в несвязанном состоянии. Он впервые говорит о возможности существования разных форм нуклеиновых кислот.

13* (с. 77). Здесь Мишер прямо формулирует принцип химической (по ядерному материалу), а не морфологической характеристики ядер клеток. См. также примечание к с. 32.

1* (с. 78). Эта работа представляет собой текст доклада, прочитанного в Базельском обществе естествоиспытателей 7 февраля 1877 г.

2* (с. 79). Идея «органообразующих участков» зародыша — одна из самых известных идей В. Гиса. Он полагал, что в зародыше имеются участки, дающие начало отдельным органам развивающегося организма (*His W.* Untersuchungen über die erste Anlage des Wirbeltierleibes. Leipzig, 1868; *His W.* Unsere Körperform und das physiologische Problem ihrer Entstehung. Leipzig, 1874).

1* (с. 84). Опубликовано в «Archiv für Anatomie und Physiologie», 1885 (Physiol. Abteilung, S. 335). Данный текст перепечатан с небольшими изменениями из издания: Gedenkschrift zur Eröffnung des Vesalianum, der neu errichteten Anstatt für Anatomie und Physiologie in Basel. Leipzig, 1885. Это издание, посвященное новому Институту анатомии и физиологии Базельского университета, в продажу не поступало. Статья интересна сформулированным в ней принципом комплексного подхода к изучению проблемы дыхания позвоночных. Этот наиболее фундаментальный обзор всего комплекса проблем дыхания был подготовлен Ф. Мишером в связи с планируемыми им исследованиями физиологии и биохимии дыхания.

1* (с. 106). Эта статья представляет собой текст доклада, прочитанного Ф. Мишером в Базельском обществе естествоиспытателей 19 февраля 1890 г.

2* (с. 108). Это очень интересный исторический факт. Речь идет о Густаве Бунге (1844—1920), профессоре Дерптского (Тартуского) университета в 1871—1884 гг., а затем профессоре физиологии Базельского университета. Бунге в базельский пери-

од своей деятельности выступил с неовиталистическими концепциями, а затем стал одним из признанных лидеров неовитализма.

3* (с. 109). В этой фразе разрядка принадлежит Ф. Мишеру, и очень интересно, что в число главных компонентов желтка (который рассматривали в то время как одну из лучших моделей для изучения развития эмбриона) включен, кроме белка, также и нуклеин (хотя на самом деле доказательства Мишера были неверны).

4* (с. 109). Работы Г. Бунге, Л. Либермана и А. Косселя ознаменовали собой начало систематических исследований нуклеиновых кислот. При этом они как бы символизировали три основных направления этих исследований, сложившихся в конце XIX в. Этими направлениями были изучение роли нуклеиновых кислот в обмене веществ организма, разработка препаративных методов их получения и изучение их строения.

Всплеск интереса к нуклеиновым кислотам локализовался в первом из них, и, как оказалось впоследствии, самом непродуктивном: нуклеиновым кислотам по ряду причин (см. об этом: «Фридрих Мишер: Очерк жизни и творчества») приписали совсем не те физиологические функции, которые им свойственны. Вместе с тем исследования строения нуклеиновых кислот, представленные незначительным числом работ, позволили начать накопление материала, позволившего в конце концов создать «двойную спираль» — модель строения молекулы ДНК и привели к последующим революционным изменениям в биологии.

5* (с. 112). См. примечание к с. 79.

6* (с. 113). В этом месте при повторной публикации статьи в «Гистохимических и физиологических трудах» В. Гис поместил следующее примечание:

«Здесь рукопись сильно сокращена, и поэтому без объяснения не все понятно: автор сопровождал свой доклад демонстрацией экспериментов и давал примечания в виде кратких надписей. Я привожу их дословно и даю пояснения:

Демонстрация: делительная воронка, яйца не раздавлены, некоторые разрезаны, мембраны отфильтрованы.

Поваренная соль без желчи: пограничный слой; содержание фосфора всегда меньше, чем в вителлине; имеется, кроме того, нуклеин.

Однако после обработки протеолитическими ферментами желточные шары исчезают — они не являются нуклеином, но содержат его как продукт расщепления.

Поваренная соль с желчью: пограничный слой на глаз значительно меньше; он сильнее растворяется.

Микроскопия протоплазмы: многочисленные пустоты, в которых были ядра. Содержание фосфора почти нулевое. Судя по всему, в них также мало и лецитина.

Рядом с разделом «Поваренная соль и желчь» в рукописи стоит вопросительный знак, который, по-видимому, относится к замечанию по поводу микроскопической картины — к пустотам от ядер.

Я интерпретирую приведенный выше текст следующим образом: при смешивании содержимого яйца и раствора поваренной соли вителлин или собственно желток в последнем растворяется. Жир и протоплазматические структуры, т. е. зародышевая и пристеночная протоплазма, а также содержащиеся в последней бледные шары, которые я принимал за ядра, остаются нерастворенными. Составные части протоплазмы и бледные шары собираются в делительной воронке в пограничном слое. Если поместить содержимое яйца не в раствор поваренной соли, а в смесь этого раствора с желчью, то растворяются также и бледные шары (и лецитин протоплазмы) и тогда пограничный слой оказывается почти свободным от фосфора. Бледные шары можно считать возникающими в протоплазме структурами — предшественниками желтка. После их растворения протоплазма становится бедной фосфором и этим отличается от желтка. Так, что последний не может быть «уплотненной протоплазмой». Следует, впрочем, сопоставить с этим местом содержание письма от 24 ноября 1884 г. (см. раздел «Научная переписка», с. 235), там Мишер называет бледные шары «вителлогеном», находящимся внутри протоплазмы осадком, который лишь позже превращается в собственно вителлин. Гис.».

7* (с. 114). В этом месте текста так же, как и в предыдущем случае, помещено примечание Гиса:

«Я хотел бы здесь подчеркнуть определенное различие, которое Мишер делает в употреблении слов «гистохимическое» и «микрохимическое». Микроскопическое ис-

следование проводится с использованием вспомогательных средств микроскопистов: на их долю выпадает применение красителей и других используемых в микроскопии реактивов. Гистохимия, напротив, предусматривает строгое проведение химических методик, изоляцию и тщательное исследование гистогенных веществ, и прежде всего точное определение элементного состава и количественное замещение. Мишер пытался с самого начала комбинировать микроскопические и химические методики, придавая большое значение (и, следовательно, оставляя за ними последнее слово) химическим. Гис».

8* (с. 117). Эта фраза свидетельствует о том, что Ф. Мишер уже придерживался исследовательской программы рождающейся биологической химии. Мы считаем, что одно из отличий подлинной биохимии от простого использования химических методов в физиологических исследованиях заключается в том, что биохимики отошли от изучения суммарных эффектов обмена веществ («начального и конечного пункта» по Мишеру) и стали интересоваться промежуточными этапами и промежуточными продуктами обмена веществ. Это был путь к созданию той «карты метаболических путей», которая сейчас имеется в каждой биохимической лаборатории. Правда, далее из текста становится ясно, что Мишер интересовался переносом белка без его деградации, но он предполагал, что белок тканей может подвергаться биохимической перестройке, превращаясь в «блуждающие вещества» (глобулин, вителлин и т. д.). Эти представления были в духе представлений о перемещении продуктов обмена веществ в организме, господствовавших в то время.

9* (с. 120). Работы, посвященные процессам спермообразования и развития икринок рейнского лосося, позволяют делать важные выводы о представлениях Мишера о функциях нуклеиновых кислот, которых он придерживался в 80-х гг. в своих публикациях. (Его суждения, носящие характер гипотез, см. в разделе «Научная переписка».) Эти представления были очень далеки от концепций, связывающих нуклеиновые кислоты с явлениями оплодотворения и передачи наследственных признаков. Характерно, что Мишер не получил доказательств чисто физиологической роли нуклеиновых кислот, не смог доказать, что они являются своеобразными переносчиками или аккумуляторами фосфора, жиров, белков и т. д. Однако именно эта ложная концепция временно воспреобладала после его смерти.

1* (с. 122). Доклад на заседании Швейцарского общества естествоиспытателей в Базеле 6 сентября 1892 г. Опубликовано в «Compte rendus des archives des sciences physiques et naturelles», 1891, p. 164.

Текст представляет собой изложение доклада по протоколу.

2* (с. 124). Ф. Мишер оказался прозорливее большинства своих современников-гистологов. Действительно, методы окрашивания тех или иных морфологических образований, а здесь речь идет собственно не о хроматине, а о хромосомах, были очень несовершенны. Напомним, что только в 60-х гг. XIX в. доцент Тартуского университета Эдмунд Руссов (1841—1897), ученик М. Шлейдена и учитель В. А. Ротерта, дал достаточно точные рисунки и описания хромосом, названных им «палочковидными пластинками». Но Руссов наблюдал хромосомы в живых клетках высших растений в процессе митоза. Работы Э. Руссова и он сам почти забыты (см.: *Линкрус Э.* По следам Э. Руссова в Кясму.— Природа Эстонии, 1969, № 11, с. 701—705; *Вермель Е. М.* История учения о клетке. М.: Наука, 1970. 259 с.; *Манойленко К. В.* Владислав Адольфович Ротерт (1853—1916). М.: Наука, 1978. 141 с.), так же как и работы И. Д. Чистякова (*Чистяков И. Д.* История развития спорангиев и спор высших тайнобрачных, пыльников и пыльцы явнобрачных.— Изв. О-ва любителей естествозн., антропол. и этнографии, 1871, т. 9, с. 98).

Напомним также, что окрашивание основными красителями хромосом было использовано В. Вальдейером только в 1888 г. (он ввел и наименование «хромосома»). Все подобные методы основывали на эмпирическом подборе красителей, как правило, не связывали с основными химическими компонентами различных морфологических образований клеток, скорее на основании реакций окрашивания пытались сделать заключение об их составе. Поэтому Ф. Мишер был совершенно прав, когда предупреждал о возможных ошибках. Но его предупреждение не помогло — Э. Вильсон через несколько лет доверился данным об исчезновении нуклеиновых кислот после акта митоза (см. примечание к с. 145).

1* (с. 124). Текст данной статьи, а также протоколы экспериментов были обработаны и подготовлены к печати сотрудником Ф. Мишера О. Шмидебергом. Подлинный текст Ф. Мишера в статье взят в кавычки (восстановлен по записям в его рабочих дневниках). Остальной текст подготовлен Шмидебергом по рабочим дневникам и записным книжкам ученого.

Освальд Шмидеберг (1838—1921), сын лесничего из Курляндии, был одним из самых близких друзей Ф. Мишера. Шмидеберг вместе с Р. Бухгеймом может быть назван одним из основателей научной фармакологии. Работая в Дерптском (ныне Тартуском) университете под руководством Бухгейма, он вместе с Р. Коппе исследовал ядовитое начало, содержащееся в мухоморе, и выделил ранее не известный алкалоид мускарин, тщательно изучив его свойства (*Schmiedeberg O., Koppe R.* Das Muscarins. Das giftige Alkaloid des Fliegenpilzes (Agaricus muscarius L.), seine Darstellung, chemischen Eigenschaften, physiologischen Wirkungen, toxikologische Bedeutung und sein Verhaltniss zur Pilzergiftung im Allgemeinen. Leipzig, 1869. 111 S.).

В 1877 г. О. Шмидеберг (с Э. Харнаком) синтезировал азотистый эфир холина, а позднее он изучал фармакологические свойства кофеина, дигиталина, соланина и других алкалоидов. Научные основы фармакологии он изложил в трехтомном труде «Основы фармакологии» (русский перевод П. И. Браславского. Киев, 1905. 499 с.).

Однако в историю биохимии он вошел благодаря осуществленному им в 1876 г. совместно с Г. Бунге первому биохимическому синтезу — получению гиппуровой кислоты из бензойной кислоты и гликоколла (*Bunge G., Schmiedeberg O.* Über die Bildung der Hippursäure (1876).— Arch. exper. Pathol. und Pharmakol., 1877, Bd. 6, S. 233—255).

Благодаря О. Шмидебергу и другому своему товарищу — Р. Бёму Ф. Мишер был связан с Тартуским университетом. О. Шмидеберг сменил Р. Бухгейма на посту руководителя кафедры фармакологии в 1869 г. и проработал до 1872 г. (переход на работу в Страссбургский университет). Вместо Шмидеберга кафедрой стал заведывать Р. Бём (1872—1881 гг.), с которым Ф. Мишер поддерживал оживленную переписку (см. раздел «Научная переписка»).

Статья опубликована в журн.: Archiv für experiment. Pathologie und Pharmakologie, 1896, Bd. 37, S. 100— и перепечатана в «Гистохимических и физиологических трудах» (с. 359—414).

Текст статьи О. Шмидеберг снабдил следующими «Предварительными замечаниями»:

«Научная деятельность Мишера началась в 1868 г. в лаборатории Гоппе-Зейлера в Тюбингене с изучения клеток гноя, которое завершилось открытием белковосодержащего нуклеина или, как позднее называли это вещество, нуклеоальбумина. После того как в 1871 г. в своем родном Базеле Мишер защитил диссертацию, а в следующем году занял там пост профессора физиологии, он поставил перед собой в качестве главной задачи своей жизни детальное и исчерпывающее изучение физиолого-химических процессов, происходящих в организме лосося, когда, во время его миграции из моря в Рейн, в его организме происходит образование яиц (икры) и спермы (молок).

Уже в 1878 г. Мишер смог сообщить об открытии своеобразного основания, протамина, и свободного от белка нуклеина, причем последний по своим свойствам оказался близким к «многоосновной кислоте» и образовывал в сперматозоидах солеобразное соединение с протамином — «нуклеиновокислый протамин». Затем в 1880 г. были опубликованы его наблюдения и результаты экспериментов, посвященные изучению жизни рейнского лосося в пресных водах; в этих материалах содержались доказательства существования тех поистине грандиозных процессов обмена и передвижения веществ, благодаря которым в организме рыбы за счет мышечной ткани, получившей в период пребывания в море исключительное развитие, происходит синтез большой массы половых продуктов, а именно икры и сперматозоидов, причем этот синтез происходит в условиях пребывания лосося в пресной воде, когда рыба на протяжении нескольких месяцев не принимает пищи. Этот своеобразный процесс, когда в организме лосося из веществ его тела происходит образование накапливающихся в сперме и икре веществ, Мишер рассматривал как образец поставленного природой великолепного эксперимента, детальное изучение которого будет способствовать пониманию важнейших проблем биохимии. Наряду с этим Мишер оценил исключитель-

ное значение, которое имеет икра и прежде всего сперма животных в качестве гистологического материала. Предметом дальнейших исследований оказались морфологическое строение и качественный и количественный состав зрелых или развивающихся яйцеклеток и сперматозоидов, с одной стороны, и других органов и жидкостей тела — с другой. В результате этих исследований предполагалось описать историю химических процессов, предшествующих воспроизведению. Этот большой рабочий план, однако, не удалось целиком осуществить. Лишь отдельные части этого плана были близки к завершению, когда коварная болезнь приковала автора работ весной 1891 г. к больничной койке, которую он не смог уже более покинуть.

Из всего обширного оставленного Ф. Мишером рукописного материала вполне доступными для обработки оказались только заметки о химических компонентах и количественном составе спермы лососевых рыб. В этом случае протоколы количественных анализов могли служить той путеводной нитью, руководствуясь которой можно было шаг за шагом проследить путь сложнейших исследований, представляющийся столь запутанным для постороннего наблюдателя. Несмотря на это благоприятное обстоятельство, моя задача ни в коем случае не могла считаться легкой и простой. Элементные анализы, выполненные с исключительной тщательностью личным ассистентом Мишера доктором Б. Гмелином, частично были закончены уже после заболевания автора. Поэтому нигде не удалось обнаружить даже попытки рассчитать для белка и нуклеиновой кислоты точные формулы, которые были необходимы для понимания материала других анализов. В связи с этим мне пришлось заняться совершенно новым для меня вопросом, по поводу которого даже сам автор делал лишь ориентировочные предположения, которые, как он это неоднократно подчеркивает в своих письмах, могут быть сильно изменены при учете результатов анализов. Следует указать, что заметки и более подробные записи были вообще труднодоступны. Они были разбросаны в дневниковых тетрадях, а также на отдельных листках. Поэтому потребовалось много терпения, для того чтобы собрать весь материал и в соответствующем порядке его расположить. Такого рода работу следовало проводить с исключительной осторожностью и осмотрительностью, поскольку не была исключена опасность ошибок из-за путаницы и неверной интерпретации материала; естественно, что эти ошибки, связанные с подготовкой текста, позднее могли бы быть приписаны автору работы. Округленные, полностью совпадающие между собой результаты являются подлинным залогом правильности пути исследования и позволяют исключить возможные случайности.

Я излагаю материал сугубо по существу вопроса, и несомненно, что автор предложил бы менее тяжелый, более изящный и не столь сухой способ интерпретации своих данных. Однако мне пришлось ограничить свою задачу простым и возможно более точным изложением фактов, с последующим их четким объяснением, с тем, чтобы эти факты говорили сами за себя. Хорошо подготовленному читателю результаты, полученные с помощью грифеля и доски, покажутся более интересными, нежели самые занимательные фантазии, вышедшие из-под пера. Литературными источниками я подробно не занимался, поскольку при этом в оценку работы, по существу, мог бы вкрасться момент субъективности.

Сам автор не ознакомился в полной мере с теми результатами его тяжелого и неутомимого труда, которые будут представлены в дальнейшем изложении. Наряду с тяжким трудом здоровье Ф. Мишера подвергалось опасностям, когда при сборе все новых партий материала для наблюдений и исследования ему приходилось каждый год при самых неблагоприятных условиях осенних месяцев находиться в течение многих дней в неприспособленных помещениях. Наконец, на том дереве, которое он в течение многих лет терпеливо и стойко выращивал, созрел прекрасный плод. Ему не суждено было порадоваться этому плоду своих трудов. Вся его жизнь была посвящена биологической науке, этой науке окажутся чрезвычайно полезными плоды его деятельности».

Эта статья интересна своим детальным описанием процедур выделения и очистки препаратов нуклеиновой кислоты. На основании этих описаний можно судить о том, что за препараты получал Мишер. Скорее всего, это была деполимеризованная дезоксирибонуклеиновая кислота.

[2]* (с. 126). Здесь при публикации сделано примечание: «Выраженное здесь автором намерение подвести итоги результатов работ 1874 г. и других лет по сперме ло-

сося с целью их подтверждения или отрицания путем сравнения их с более новыми данными и создания единой картины, разумеется, мог выполнить только сам автор».

3* (с. 126). Этот раздел подготовлен к печати О. Шмидебергом.

4* (с. 130). Этот раздел вплоть до конца описания высушивания нуклеиновой кислоты написан Ф. Мишером летом 1895 г.

5* (с. 145). Следующие ниже разделы «О структуре сперматозоидов» и «Гистохимическое изолирование» представляют собой почти дословный текст заметок Мишера.

6* (с. 145). Критическое отношение к цитохимическим доказательствам присутствия нуклеиновых кислот, основанным на специфических (или относительно специфических) реакциях окрашивания, привело в 1900—1910 гг. к отрицанию факта повсеместного распространения нуклеиновых кислот и постоянного присутствия их в клетках. Обусловлены эти ошибочные заключения малой чувствительностью реакций окрашивания. Прошло еще несколько десятилетий, прежде чем Р. Фейльген реабилитировал методы окрашивания и доказал с их помощью широкое распространение ДНК.

В результате же неубедительных реакций в конце XIX в. из обсуждения оказалась исключенной гипотеза об участии нуклеиновых кислот в построении наследственного материала в клетках. Это произошло как раз в то время, когда возникла генетика. Нуклеиновые кислоты же стали рассматривать как возможное депо фосфора или вообще запасное вещество для биосинтеза фосфолипидов, фосфорсодержащих белков и т. п.

Подробнее см.: Фридрих Мишер. Очерк жизни и творчества.

7* (с. 161). О «кариогене» см. раздел «Научная переписка».

8* (с. 161). В кавычках подлинные записи Ф. Мишера.

9* (с. 163). Это интересное подтверждение того, что О. Шмидеберг повторял эксперименты Ф. Мишера.

10* (с. 169). Это также подлинные слова Ф. Мишера, которые очень интересны в контексте гипотезы о существовании кариогена — специфического вещества ядер сперматозоидов. Мишер настойчиво искал вещество, ответственное за важнейшие биологические функции клетки, участвующей в процессе полового размножения. Не поверив, что за процесс оплодотворения и передачи наследственных признаков может отвечать нуклеиновая кислота, он предположил существование еще одного сложного органического соединения в ядрах. Эти вещества и должны были быть «отпечатаны, подобно монете», и воспроизводиться с помощью такого процесса «чеканки». Очень соблазнительно увидеть в этих словах намеки на построение матричной гипотезы биосинтеза сложных соединений в клетке, тем более что подходы к этим гипотезам стали разрабатываться как раз в это время в европейской биологической и медицинской литературе.

11* (с. 170). Очень показательно, что следующей (после выделения нуклеиновых кислот) задачей Мишер и его ученики рассматривали изучение строения этих соединений. Характерны здесь слова О. Шмидеберга о приоритете химии белка в решении проблемы строения важнейших биополимеров.

12* (с. 170). Эти «Заключительные замечания» написаны В. Гисом и приводятся нами с незначительными сокращениями.

13* (с. 170). См. раздел «Научная переписка», письма XLV, XLVII, LXXIV и комментарии к ним.

14* (с. 170). См. с. 222.

15* (с. 171). См. с. 223.

16* (с. 171). См. с. 242.

1* (с. 175). Эта статья была напечатана в журн.: Berichte der Deutsche chemische Gesellschaft, 1874, Bd. 7, S. 376—379 — в посмертное собрание трудов Ф. Мишера не вошла. Печатается нами по первому изданию.

2* (с. 175). На самом деле Мишеру не удалось получить нуклеин из яичного желтка.

НАУЧНАЯ ПЕРЕПИСКА

1* (с. 178). Научная переписка Ф. Мишера была собрана и обработана В. Гисом и опубликована в сборнике «Гистохимические и физиологические труды Фридриха Мишера». При этом В. Гисом было проведено деление писем на проблемные блоки. Это деление (хотя заголовки блоков, предложенные Гисом, иногда изменены) и нумерация писем, кроме последнего раздела, сохранены в нашем издании. Нами опущены фрагменты писем, посвященных разработкам рациональных рационов для питания заключенных в тюрьме в Базеле (1876—1888 гг.— письма LXXIV—LXXVII по нумерации посмертного издания) и работам по дыханию (1885—1894 гг.— письма LXXXVIII—XCV по нумерации посмертного издания).

Переписка Ф. Мишера включает письма его самого к В. Гису, своим родителям и коллегам, а также некоторые ответы на эти письма. Материалы представляют собой ценнейший источник не только для научной биографии швейцарского биохимика, но и для истории биологии в целом. Они показывают сколь напряженно пытались осмыслить многочисленные вновь открываемые факты цитологи, эмбриологи и биохимики в конце XIX в. Из них видно также, что во многом биологи стояли на правильном пути, но отсутствие системы доказательств, столь же четкой, как в химии и физике, необходимость принятия интуитивных выводов удерживали цитологов от поспешного обнародования своих догадок. Одновременно эти письма позволяют понять детали скрытой работы по созданию новой методологии биологических исследований, связанной с быстрым распространением методов физики и химии в область биологических исследований, стремительного развития экспериментальной биологии.

Как известно, эти процессы сопровождались многочисленными дискуссиями, в которых высказывались крайние точки зрения. При этом острота споров нередко мешала видеть позитивные моменты в концепциях противников, ту диалектичность развития биологии, которая обеспечила в конце концов стремительный прогресс биологических наук в XX в.

2* (с. 178). Письмо адресовано В. Гису.

3* (с. 180). Ф. Мишер отмечает здесь одну из важнейших методологических проблем, затруднявших развитие химии природных соединений, да и вообще органической химии на протяжении XIX в. Это трудность идентификации аморфных препаратов различных химически индивидуальных природных соединений. Сам Ф. Мишер блестяще разрешил эту задачу, что далеко не всегда удавалось даже тем, кто следовал по проложенному им пути. Достаточно указать на тот факт, что после него «нуклеин» часто получали в столь загрязненном виде, что мы не можем сейчас решить в отдельных случаях, имели ли исследователи дело действительно с препаратами нуклеиновой кислоты или нуклеопротеида. Нуклеин в конце XIX — начале XX в. часто путали с фосфорсодержащими белками, в частности с казеином (см.: *Брусянин Н.* О нуклеинах некоторых питательных веществ: Диссертация на степень доктора медицины. СПб., 1889. 32 с.— Это довольно типичная работа того периода, где достаточно достоверные данные смешаны с данными сомнительными именно в своей методологической основе).

Решение проблемы идентификации аморфных препаратов природных соединений знаменовало собой возникновение препаративной биохимии, значительно содействовавшей прогрессу классической биохимии и благодаря успешному проникновению в глубь клетки прогрессу биологии в целом.

4* (с. 182). Письмо адресовано одному из друзей Ф. Мишера по университету.

5* (с. 183). Письмо адресовано родителям, послано из Тюбингена.

6* (с. 183). Это письмо также послано Мишером родителям из Тюбингена.

7* (с. 183). Письмо В. Гису.

8* (с. 185). Письмо адресовано Ф. Мишеру Ф. Гоппе-Зейлером. Это очень важное письмо, так как в нем Гоппе-Зейлер уже полностью признает правоту своего стажера. Как известно, Гоппе-Зейлер после выделения Мишером «нуклеина» не был уверен в том, что имело место выделение химически индивидуального вещества. Он проверял открытие Мишера лично (как это видно из письма), а также привлек к его проверке стажера из Пешта Пала Плоса (1844—1902) и стажера из России Николая Николаевича Любавина (1845—1918), которым он поручил параллельные поисковые работы. Н. Н. Любавин стал впоследствии известным химиком-технологом, был профессором

Петербургского (1871—1886) и Московского (1886—1906) университетов. Он был одним из первых популяризаторов марксизма в России и первым издателем трудов К. Маркса на русском языке (см. также: *Конюшая Р. П.* Карл Маркс и революционная Россия. М.: Политиздат, 1975. 112 с.

Публикации об открытии нового вещества, сделанного Мишером, появились в сопровождении нескольких статей: одна из них принадлежала П. Плосу, который использовал метод Мишера для получения «нуклеинов» из эритроцитов крови птиц и змей, одна — самому Гоппе-Зейлеру, который подтвердил вывод Мишера и сообщил о выделении нуклеина из дрожжей, и статьи Н. Н. Любавина, который изучал действие пепсина на казеин с получением «нуклеиноподобных» веществ.

Все эти статьи вошли в сборник работ Тюбингенской лаборатории («Сообщения» в тексте письма): Medicinisch-chemische Untersuchungen. Aus dem Laboratorium fur angewandte Chemie zu Tübingen. Heft 4. Berlin, August Hirschwald, 1871; *Plosz Pal.* Ueber das chemische Verhalten der Kerne der Vogel- und Schlangenblutkörperchen. S. 461—463; *Lubavin N.* Ueber die künstliche Pepsinverdauung des Casein und die Einwirkung von Wasser auf Eiweisssubstanzen. S. 463—471; *Hoppe-Seyler, Felix.* Ueber die chemische Zusammensetzung des Eiters. S. 486—501.

9* (с. 186). Речь идет о знаменитом Институте физиологии Лейпцигского университета, построенном по инициативе и под наблюдением известного немецкого физиолога Карла Людвига (1816—1895). Институт этот в 70-х гг. XIX в. был самым большим и наилучшим образом оснащенным в Европе. В нем были оборудованы физиологические, химические и гистологические лаборатории. В этом институте сложилась одна из крупнейших в то время интернациональных физиологических школ. Именно В. Гис описал его кабинет — проходную комнату со всегда открытыми дверями. Квартира Людвига была также расположена в здании института на втором этаже.

Среди учеников К. Людвига было много будущих основоположников биохимии, в том числе национальных биохимических школ ряда стран. Можно упомянуть В. Кюне, О. Гаммарстена, Э. Дрекселя, Э. Шефера, А. А. Шмидта, Р. Читтендена, М. Рубнера, Э. Фойта. В 1869—1870 и 1894—1895 гг. в институте работал Ф. Мишер (см.: *Чеснокова С. А.* Карл Людвиг. 1816—1895. М.: Наука, 1973. 256 с.). В разное время у К. Людвига работало свыше 250 учеников.

10* (с. 186). Речь идет об Александре Александровиче Шмидте (1831—1894), дерптском физиологе, впоследствии ректоре Дерптского (Тартуского) университета, вошедшего в историю биохимии благодаря своему открытию ферментативной системы свертывания крови (см.: *Унтербергер Ф. А.* Извлечение из отчета д-ра А. А. Шмидта. О новейших его исследованиях крови.— Воен.-мед. журн., 1864, т. 42, ч. 90, с. 160—163).

В Институте у Людвига работали и другие отечественные ученые, среди которых были Н. И. и В. И. Баксты, Ф. П. Шереметьевский, ученик И. М. Сеченова К. В. Ворошилов. С ними мог встречаться Ф. Мишер. В другие годы у Людвига работали И. М. Сеченов, В. В. Пашутин, И. М. Догель, И. Ф. Цион, И. П. Павлов, П. П. Эйнбродт и др. (всего более 50 человек).

11* (с. 187). Письмо Ф. Мишера Ф. Гоппе-Зейлеру.

12* (с. 189). Письмо Ф. Мишера Ф. Гоппе-Зейлеру.

13* (с. 190). Письмо Ф. Мишера Ф. Гоппе-Зейлеру.

Разразившаяся франко-прусская война, как полагали многие, на долгое время прервет научную и культурную жизнь Франции и германских государств. Определенное беспокойство испытывали и в Швейцарии, у границ которой развернулись сражения между враждующими армиями. Однако разгром французских войск у Седана и капитуляция Наполеона III принесли неожиданно быструю для многих победу Пруссии.

14* (с. 191). Ответ Ф. Гоппе-Зейлера Ф. Мишеру.

15* (с. 192). См. примечание к с. 185.

16* (с. 192). Письмо Ф. Гоппе-Зейлера Ф. Мишеру.

17* (с. 193). Письмо Ф. Мишера Ф. Гоппе-Зейлеру.

18* (с. 193). Эта фраза свидетельствует о том, что уже в 1870 г. Ф. Мишер понимал, что открытое им новое вещество является чем-то большим, чем просто пассивным компонентом ядра. Слова о «физиологическом факторе» показывают, что швей-

царский ученый проявил весьма четкий биохимический подход (а не чисто химический или чисто морфологический, как могло показаться из описания разработанной им методики).

19* (с. 194). См. статью на с. 25.

20* (с. 194). Здесь примечание В. Гиса: «Окончание письма, в котором Мишер высказался, очевидно, о разделении работ между ним и Гоппе-Зейлером, отсутствует».

21* (с. 194). Письмо Ф. Гоппе-Зейлера Ф. Мишеру.

22* (с. 196). Письмо Ф. Гоппе-Зейлера Ф. Мишеру.

23* (с. 196). Ответ Ф. Мишера на предыдущее письмо.

1* (с. 198). Письма XVI—XXIV написаны Ф. Мишером во время пребывания в Физиологическом институте К. Людвига в Лейпциге в 1869—1870 и 1894—1895 гг. Письмо XVI адресовано Мишером родителям.

2* (с. 198). Вероятно, речь идет о К. В. Ворошилове, будущем ректоре Казанского университета (1889—1899 гг.) (см. примечание к с. 186).

3* (с. 198). Боудич Генри Пикеринг (1840—1911), американский физиолог. После окончания Гарвардского университета стажировался у К. Людвига в Лейпциге. Там же он открыл свои законы «Все или ничего» и «Феномен лестницы» (см.: *Bowditch H. P.* Über die Interferenz des retardierenden und beschleunigenden Herznerven.— Arb. Physiol. Institut zu Leipzig, 1872, S. 259; *Bowditch H. P.* Über die Nachweis der Unermüdlichkeit des Säugethiernerven.— Arch. Physiol., 1890, S. 505).

4* (с. 198). О манере Людвига читать лекции Ф. Мишер пишет и в более поздних письмах: «Людвиг за последние 5—6 недель прочитал почти все органы чувств. Я был поражен простотой его изложения, которая в целом основана на возможно более наглядной демонстрации ряда фундаментальных экспериментов. С небольшими изменениями эти же лекции могли бы быть прочитаны перед широкой научно не подготовленной публикой. Именно в лекциях Людвиг не стремится быть прямолинейным математиком. Не потому, что он не владеет математическим анализом, а из соображений недостаточной подготовки слушателей, он стремится у них найти точки опоры для понимания скорее в способности воспринимать, чем в чисто отвлеченных понятийных механизмах».

5* (с. 198). Письмо к родителям.

6* (с. 199). Письмо к В. Гису.

7* (с. 199). Письмо к родителям.

8* (с. 200). Письмо к В. Гису.

9* (с. 200). Это заключение Ф. Мишера очень важно для понимания структуры экспериментальной биологии в конце XIX в., в период ее бурного и многопланового развития.

10* (с. 200). Письмо к родителям.

11* (с. 200). Письма XXII—XXIV (к В. Гису) интересны высказываниями Ф. Мишера о Людвиге (см. примечание к письму VI).

1* (с. 201). Письма XXV—XXXVI связаны с периодом первых работ по химии спермы лосося (1871—1874 гг.).

Письмо XXV адресовано Рудольфу Бёму (1844—1926), с которым Мишер познакомился, работая у Людвига. Там же он познакомился с Г. Боудичем, Г. Кронекером, А. Моссо, Ф. Холмгреном, Г. Хюфнером, О. Шмидебергом. Самыми близкими его друзьями, однако, до самой смерти оставались Бём, Хюфнер и Шмидеберг. Р. А. М. Бём учился в Вюрцбургском и Мюнхенском университетах, стажировался у К. Людвига, затем преподавал в Вюрцбурге, а в 1872—1884 гг. был профессором фармакологии в Дерптском (ныне Тартуском) университете. Мишер часто писал Бёму в Вюрцбург, а затем в Тарту. Таким образом, через Бёма Мишер имел контакт и с одним из университетов, находящихся на территории России.

2* (с. 202). Это слово не расшифровано В. Гисом.

3* (с. 202). Письмо отправлено Ф. Мишером Ф. Гоппе-Зейлеру в Страссбург.

4* (с. 204). Этот фрагмент письма интересен предложением ввести термин «протамин» задолго до работ А. Косселя (см.: *Шамин А. Н.* История химии белка. М.: Наука, 1977, с. 114). Характерно, что Мишер считал, что «протамин» «должен запол-

нить огромный пробел между мочевой кислотой и белком». Протамин, по Мишеру, имел основной характер, и иногда он называл его «алкалоидом».

5* (с. 205). Имеются в виду «Berichte der Deutsche chemische Gesellschaft».

6* (с. 206). Письмо Ф. Мишера Ф. Гоппе-Зейлеру. В этом письме Мишер с достаточной определенностью пишет о возможном существовании комплексов «нуклеин-протамин» (здесь нужно учитывать особенности терминологии того времени), т. е. нуклеопротеидов.

Исключительное историческое значение имеет его заключение: «По всей вероятности, нуклеин представляет собой многоосновную кислоту». Это был 1872 г., и к подобным заключениям Н. Н. Любавин и Р. Альтман пришли только в 80-х гг. (вернее, подтвердили открытие Ф. Мишера, так как и тот и другой знали об этом выводе ученого).

7* (с. 207). Письмо Ф. Мишера Р. А. М. Бёму.

8* (с. 209). Это предположение: «Не окажется ли в конце концов, что нуклеиновокислый протамин... или родственная ему, а следовательно, физиологически равноценная молекула является необходимым звеном активной организации при размножении клеток?» — поразительно по своей прозорливости. В начале 70-х гг. XIX в., кроме работ самого Мишера, практически не имелось данных о химической организации клеток. Поэтому сам факт попытки дать химическую интерпретацию процессу оплодотворения и деления клеток имеет огромное историческое значение.

Правда, следующий абзац письма показывает, что в 1872 г. Мишер отводил своему «нуклеиновокислому протамину» роль некоего «спускового крючка» («недостающего винтика», из-за которого приостанавливается развитие), т. е. давал механистическое объяснение самому акту оплодотворения и не думал тогда о передаче наследственных признаков.

Здесь весьма заметно влияние на взгляды Мишера концепций В. Гиса. Со взглядами последнего и стремился согласовать Мишер свою схему — первую гипотезу о биологической роли нуклеиновых кислот.

9* (с. 210). Письмо В. Гису.

10* (с. 210). Письмо В. Гису.

11* (с. 211). Письмо В. Гису.

12* (с. 211). Письмо В. Гису.

13* (с. 212). Письмо В. Гису.

14* (с. 212). Письмо В. Гису.

15* (с. 212). Письмо В. Гису. Оно интересно суждениями Ф. Мишера о процессе деления клеток и клеточном росте. В нем рассматривается также вопрос о нуклеине из молок лосося, который Мишер уже в 1874 г. также считал многоосновной кислотой.

16* (с. 213). Это первая эмпирическая формула нуклеиновой кислоты. Впоследствии она подвергалась корректировкам и приняла окончательный для работ Мишера вид (естественно, далекий от истины) в опубликованных О. Шмидебергом исследованиях молок лосося (см. с. 124).

17* (с. 214). Это письмо В. Гису написано после окончания первого цикла работ по нуклеину спермы лосося.

1* (с. 214). В письмах XXXVII—LXXXIII затрагиваются гистохимические проблемы общего характера: строение вещества соединительной ткани, тканевое дыхание и т. д. Но наибольший интерес представляют высказывания Ф. Мишера о процессах оплодотворения, химии неоплодотворенного и оплодотворенного яйца, о химических процессах при развитии сперматозоидов и т. п. Письма относятся к 1875—1895 гг.

Письмо XXXVII адресовано В. Гису и касается вопросов строения соединительной ткани. Вообще вся проблематика этих писем была очень близка В. Гису.

Для формирующейся биологической химии утверждение о приоритете химических данных о строении веществ, из которых слагаются компоненты клетки, перед микроскопическими цитологическими или даже цитохимическими данными имело принципиальное значение. Даже судьба самого открытия нуклеиновых кислот, история представлений об их биологических функциях полностью подтверждают правильность методологического принципа — «через познание строения веществ к познанию их биологических функций». Это утверждение казалось еретическим многим биологам и даже химикам, не допускавшим мысли о том, что химически индивидуальные

вещества, отторгнутые от биологических структур, могут сохранить биологические функции или даже обладать ими в принципе. В этом заключалась одна из особенностей «добиохимической» эпохи от «биохимической», для которой совершенно очевидным является утверждение: «Живые организмы в норме не содержат нефункционирующих соединений, хотя существуют биомолекулы, функции которых пока неясны» (*Ленинджер А*. Биохимия. М.: Мир, 1976, с. 12).

2* (с. 215). Письмо В. Гису, в нем Мишер развивает взгляды на процесс оплодотворения, уже высказанные им в 1872 г. (см. письмо XXVIII).

3* (с. 216). Письмо В. Гису. Оно также важно для понимания методологической позиции Ф. Мишера, который формулирует здесь задачи химии протоплазмы.

4* (с. 217). Письмо адресовано Ф. Гоппе-Зейлеру в Страссбург и посвящено разбору проблемы «Нуклеин и вещества яйца», очень занимавшей в то время Мишера.

5* (с. 218). Это письмо также адресовано Ф. Гоппе-Зейлеру и продолжает рассмотрение данных по проблеме «Нуклеин и вещества яйца».

6* (с. 221). Имеется в виду, вероятно, книга: *Kölliker A*. Entwicklungsgeschichte der Cephalopoden. Zürich, 1844.

7* (с. 221). Письмо В. Гису с продолжением рассмотрения вопросов химического состава яйца и желточных пластинок.

8* (с. 221). Краснобрюхая жерлянка (Bombina bombina) — вид лягушек, которых изучал Ф. Мишер.

9* (с. 222). Это также совершенно новое, революционное для науки XIX в. положение. Собственно говоря, здесь Мишер впервые проводит параллель между химическими соединениями и морфологическими структурами, допуская возможность первых служить основой для вторых. Это было очень смелое по тем временам утверждение, опережавшее аналогичные рассуждения биологов на десятилетия.

Представление о том, что химическое соединение (химический индивид) может одновременно обладать биологической индивидуальностью, впервые обосновал в печати в 1916 г. Э. Фишер. (см.: *Фишер Э*. Избранные труды. М.: Наука, 1979, с. 363). До него подобные высказывания отбрасывались как бездоказательные. Он же впервые обосновал возможность существования бесконечного числа изомеров единообразно построенных биополимеров (в его случае — белков).

10* (с. 222). Письмо В. Гису. Мишер рассматривает в нем проблему образования сперматозоидов.

11* (с. 223). Письмо В. Гису, продолжение анализа проблемы химизма развития сперматозоидов.

12* (с. 224). Письмо Р. А. М. Бёму, который в то время уже работал в Тартуском университете. В письме также рассматриваются данные о химизме образования сперматозоидов.

13* (с. 226). Письмо В. Гису. Рассмотрена проблема источников белковых веществ, необходимых для образования икры у рейнского лосося.

14* (с. 226). Письмо В. Гису.

15* (с. 227). Письмо В. Гису. Ф. Мишер делает попытку придать общетеоретический характер представлениям В. Кюне о нейрокератине, гипотетическом устойчивом к протеолитическим ферментам веществе клеток мозга.

16* (с. 227). Письмо В. Гису. Ф. Мишер пытается в нем с физиологических позиций рассмотреть возможности питания и снабжения кислородом растущей клетки. Его интерес к этому вопросу был основан на личном опыте экспериментального исследования тканевого дыхания в начале 70-х гг. XIX в. у К. Людвига.

17* (с. 230). Письмо Ф. Мишера Р. А. М. Бёму.

18* (с. 230). Письмо В. Гису.

19* (с. 231). Письмо В. Гису.

20* (с. 231). Письмо В. Гису.

21* (с. 233). Письмо В. Гису.

22* (с. 233). Письмо В. Гису.

23* (с. 234). Письмо В. Гису по поводу окончания работы 1880 г.

24* (с. 234). Письмо В. Гису.

25* (с. 235). Письмо В. Гису.

26* (с. 235). Ф. Мишер корректирует положение об азотистом равновесии организма, выдвинутое К. Фойтом (1831—1908).

[27*] (с. 235). Письмо В. Гису.

[28*] (с. 235). Письмо В. Гису.

[29*] (с. 236). См. с. 9.

[30*] (с. 236). Письмо В. Гису. В этом письме Ф. Мишер сообщает о возобновлении работ по нуклеину, а также делится своими взглядами на природу желтка и процесс превращения желтка в тело эмбриона.

[31*] (с. 237). Письмо В. Гису, интересное сопоставлением сообщения о «химическом синтезе» нуклеина О. Либерманом с воззрениями о том, что функциональные особенности нуклеина зависят от тонких деталей его химического строения. Такое сопоставление было необыкновенно прогрессивным для последней четверти XIX в.

[32*] (с. 238). Письмо В. Гису.

[33*] (с. 238). In flagrante delicto (лат.) — пойманный на месте преступления.

[34*] (с. 238). Письмо В. Гису.

[35*] (с. 238). Письмо В. Гису.

[36*] (с. 238). Письмо В. Гису.

[37*] (с. 239). Письмо В. Гису, интересное заключением о роли нуклеина в морфологическом строении головок сперматозоидов.

[38*] (с. 239). Письмо В. Гису.

[39*] (с. 239). Письмо В. Гису

[40*] (с. 240). Речь идет о работе Рихарда Альтмана (1852—1900), который окончательно доказал, что нуклеин — многоосновная кислота и предложил термин, сохранившийся до наших дней — нуклеиновая кислота (см. с. 31). Впоследствии Альтман выполнил еще несколько работ, которые привлекли внимание Ф. Мишера: *Altmann R.* Die Elementarorganismen und ihre Beziehung zu den Zellen. Leipzig, Voit, 1890; *Altmann R.* Über Kernstruktur und Netzstruktur.— Arch. Anat. Physiol., 1892, S. 223—230.

[41*] (с. 240). Письмо В. Гису.

[42*] (с. 240). Письмо В. Гису.

[43*] (с. 240). Письмо В. Гису. В этом письме Мишер впервые обсуждает гипотезу о специальном «веществе оплодотворения», или, как он его называл, «кариогене». Эта гипотеза увела Мишера с правильного пути при оценке биологической роли нуклеиновых кислот и их функций в клетке и клеточном ядре. Неправильным было и исходное представление о кариогене как предшественнике нуклеина в процессе развития ядра.

[44*] (с. 241). «Жизнь коротка, искусство вечно» (лат.).

[45*] (с. 241). Письмо В. Гису.

[46*] (с. 241). «В своем роде» (лат.).

[47*] (с. 242). Письмо В. Гису. Интересно упоминанием о нуклеине как одном из основных компонентов ядра. Письмо в целом посвящено изложению гипотезы образования сперматозоидов.

[48*] (246). Письмо В. Гису. Одно из наиболее интересных писем Мишера. Рассматривая возможные гипотезы оплодотворения, Мишер предвосхищает ряд общих положений современной молекулярной биологии (хотя это нельзя назвать даже спекуляцией, а лишь формулированием неких общих идей) — роли стереохимических факторов, понятия о «биохимическом алфавите». Поразительно замечание о возможной передаче наследственных признаков с помощью ограниченного числа «химических тел».

[49*] (с. 247). Письмо В. Гису.

[50*] (с. 248). Письмо В. Гису.

[51*] (с. 251). Письмо В. Гису. Одно из первых в истории науки предположений о возможности сочетания химической и биологической индивидуальности.

[52*] (с. 251). «До крайности» (фр.).

[53*] (с. 251). Уже это утверждение делает Мишера одним из предтеч современной молекулярной биологии. Необычайно интересно, что задолго до создания пептидной теории строения белка и работ Э. Фишера Мишер не только отметил, что именно в белке может сочетаться химическая и биологическая индивидуальности, но и попытался численно выразить количество возможных изомеров.

[54*] (с. 251). Письмо В. Гису.

[55*] (с. 252). Письмо В. Гису.

[56*] (с. 252). Письмо В. Гису. Мишер писал это письмо, как и два последующих, уже больным. В Давосе Ф. Мишер и скончался в 1895 г.

[57*] (с. 254). Письмо В. Гису. Через несколько дней Ф. Мишер умер. Работы, намеченные в письмах, остались невыполненными.

[58*] (с. 255). Письмо В. Гису. Суждения о результатах работ Р. Альтмана.

В. Гис приводит еще один отрывок из письма, написанного в Давосе 15 июня 1895 г.: «Помимо данных анализов моих безукоризненных препаратов спермы, я еще сообщу о результатах элементного анализа очень хорошего препарата из дрожжей, приготовленного Альтманом, который я получил от него в 1889 г. Я рад возможности сделать еще кое-что приятное для Альтмана».

[1*] (с. 256). Письмо Р. А. М. Бёму в Вюрцбург.

[2*] (с. 256). Письмо Р. А. М. Бёму в Тарту.

[3*] (с. 257). Письмо В. Гису.

ФРИДРИХ МИШЕР (1844—1895)

ОЧЕРК ЖИЗНИ И ТВОРЧЕСТВА

ЖИЗНЬ

Иоганн Фридрих Мишер прожил короткую жизнь. Однако сразу же после публикации результатов первых своих экспериментальных исследований совсем молодым человеком он приобрел высокий авторитет и широкую известность в кругах биологов. Но, как это часто бывает, подлинное величие Мишера — основоположника цито- и эмбриохимии, первооткрывателя важнейшего класса биологически активных соединений — нуклеиновых кислот — мы можем оценить только сейчас.

Всегда бесспорным было одно — все основные исследования (они образуют логическое единство, хотя спектр их достаточно широк) должны быть признаны классическими. Их отличает и глубина замысла, и высокая культура эксперимента, и, главное, прозорливость, позволившая намного опередить свое время.

Особо нужно отметить одно необычное, но объективное свидетельство высокого авторитета Ф. Мишера. Он был инициатором и организатором Первого Международного физиологического конгресса. Этот конгресс состоялся в Базеле 10—12 сентября 1889 г. и собрал крупнейших физиологов всей Европы [1]. Организация и проведение этого конгресса еще более содействовали повышению авторитета Мишера. Мы подробнее остановимся на описании конгресса ниже, укажем сейчас только, что идеей конгресса было содействие развитию и внедрению в биологию экспериментального метода. Для этого по идее Мишера были организованы специальные демонстрации приборов и экспериментов, представлявшие собой первый опыт подобной подачи информации о научных достижениях.

В последней четверти XIX в. Ф. Мишер как точный экспериментатор и глубокий ученый был известен далеко за пределами Базеля. Его статьи цитировали, у него появились продолжатели не только из числа непосредственных учеников. Его потенциал как ученого был очень велик и далеко не исчерпан. Он надеялся, что ему удастся создать обобщающий труд по гистохимии (под гистохимией он подразумевал уже и биохимию клетки). Однако подготовить к печати и опубликовать свои «Основы общей гистохимии» он не успел. Последние полтора года жизни он тяжело болел. Но и тогда его мозг не уставал творить. 15 июня 1895 г. он писал о том, что в бессонные ночи он обдумал работу о химии спермы. В мыслях его уже был готов полный текст: «Мне нужно лишь дополнить его голыми цифрами и записать». Но чуть более чем через месяц — 26 августа 1895 г. — его не стало.

---

[1] Традиция этих конгрессов не прервалась. До сих пор это авторитетнейший форум физиологов мира. В 1980 г. в Будапеште состоялся XXXVIII Международный физиологический конгресс. Однако часть вопросов, рассматриваемых на первом конгрессе, сейчас включают в программы конгрессов биохимиков или биофизиков.

Кораблем с драгоценностями, который пошел на дно перед самой гаванью, назвал Ф. Мишера один из его учеников.

Однако вскоре после смерти труды Ф. Мишера оказались в забвении. Не помогло даже посмертное издание части его трудов и писем. Что же произошло? Почему работы Мишера ожидала такая судьба? Почему лишь потомки оценили его величие и значение того, что он сделал?

Ответы на эти вопросы может дать не только творческая биография Мишера, но и сопоставление содержания его научного наследия с состоянием формирующейся биохимии и генетики и развитием цитологии и эмбриологии в конце XIX – начале XX в. Для того же чтобы в полной мере оценить причины поворотов его судьбы, следует учитывать особенности истории и культуры его родины — Швейцарии.

Географическое положение страны, почти семисотлетняя традиция республиканского правления, этнологическое единство содействовали созданию в Швейцарии централизованного буржуазного государства, рядом особенностей отличавшегося от соседствующих европейских государств. Традиции, а также мероприятия, предпринимавшиеся по инициативе частных лиц, общества, кантональных властей (или властей федерации), содействовали созданию особой культурной и научной среды, которую отличали демократизм и практическая ориентация. В целом Швейцарию XIX в. характеризовал устойчивый материальный и интеллектуальный прогресс. Но это лишь самая поверхностная и общая оценка. Шестидесятилетний период – с момента одобрения Венским конгрессом так называемого Союзного договора в 1815 г. вплоть до принятия в 1874 г. ныне действующей Конституции швейцарской конфедерации – был далеко не спокойным временем для народа маленькой горной страны. Историки Швейцарии XIX в. даже ставили следующий вопрос: «Переживаемый Швейцарией период политических и социальных преобразований мог бы внушить вопрос: что угрожает стране – внутренние волнения или потрясения извне?» [1, с. 227]. Историк Фр. де Крю писал: «Создается впечатление, что нацию тянут в противоположные стороны. Интересы протекционизма оказываются в конфликте со свободой торговли, старые консервативные кантоны – с социалистическими городами, партикуляристы – с централизаторами, дух романской народности – с духом германской, бургунды – с аллеманами» [1, с. 227]. Надо добавить, что на положении отдельных лиц или семей гораздо сильнее нередко сказывалась рознь религиозная или основанная на отношениях с соседствующими государствами – так был период, когда особенно одиозными были симпатии к Франции. Последнее в определенной мере повлияло и на семью Мишеров.

Вместе с тем кантоны, лишенные центрального руководства, последовательно разрабатывали ряд соглашений, конкордатов, которые содействовали созданию благоприятных условий для развития науки, техники, подъема общей культуры достаточно широких слоев населения. Такие мероприятия, как упорядочение монетной системы, попытки ввести общие единицы меры и веса, введение (впервые на континенте) почтовых марок, организация разнообразных общественных работ (прежде всего строи-

тельство дорог, туннелей и каналов), способствовали распространению убеждения в необходимости организации и развития системы воспитания и образования граждан. Почетом и уважением пользовались врачи.

Уже в начале XIX в. в Швейцарии процветали, получившие всеевропейскую известность воспитательные заведения Песталоцци в Ивердоне, Жирара в Фрейбурге, Фелленберга в Гофвиле. Высшее образование в те годы можно было получить в Базельском университете, основанном еще в 1460 г. В начале XIX в. в Женеве и Лозанне были основаны академии, после 1830 г. превращенные в светские учебные заведения. В 1833 г. был открыт университет в Цюрихе, а в 1834 г. — в Берне.

Швейцария еще на рубеже XVIII—XIX вв. гордилась замечательными естествоиспытателями (мы не говорим о знаменитой семье Бернулли или Л. Эйлере — первых славных представителях швейцарской науки). В Швейцарии работал А. Халлер — один из основоположников экспериментальной физиологии, энтомолог и натуралист Ш. Боннэ. Истоки биохимии насекомых связывают с именем швейцарского пчеловода Ф. Юбера. Большой вклад в развитие экспериментальной биологии внес А. Трамбле. Возникновение учения о фотосинтезе было в значительной мере результатом трудов Ж. Сенебье и Н. Т. Соссюра. Основоположником сравнительной морфологии растений стал О. П. Декандоль, а его сын А. Декандоль укрепил традиции швейцарской ботаники. Ж. Воше внес важный вклад в микроскопическое изучение водорослей — его имя навеки сохранилось в истории альгологии (вошерия — род желтозеленых водорослей). Хорошо была представлена медицина (Й. Г. Циммерман, Т. Троншен, Ф. К. Штадлин).

Деятельность в области естественных наук и медицины, а также пропаганда их результатов поддерживались работой многочисленных и активных обществ. В 1815 г. было основано естественно-научное общество. Общество чтения содействовало распространению знаний и культуры. Большое значение имела деятельность студенческих обществ, прежде всего Цофингенского. В Швейцарии существовало множество публичных читален — она опережала в этом смысле все страны Европы. Многие кантоны содержали сельскохозяйственные, промышленные, технические и естественно-научные школы. Уровень исходной образованности в стране, а также уважение со стороны общества к труду ученых были достаточно высоки.

Семья Мишеров была типичной семьей процветающего швейцарского медика. Отец Йоганн Мишер, родился 2 марта 1811 г. в Валькрингене в Бернском Эмментале. Он первым нарушил семейную традицию, отказавшись войти в семейное дело (производство полотна) и решив стать врачом. И. Мишер вначале учился в Базеле, затем поступил в Берлинский университет, где стал одним из первых учеников Йоганнеса Мюллера. Одновременно с И. Мишером у него учились также Рудольф Вирхов и Теодор Шванн.

Влияние школы Мюллера сказалось на первой научной работе Мишера-отца, посвященной изучению строения и воспаления костей. Эта работа создала ему репутацию и позволила в 1837 г. занять место преподавателя анатомии и физиологии в Медицинской школе при Базельском

университете. Незадолго перед этим, в 1834 г., Иоганн Мишер за 1600 швейцарских франков приобрел права гражданина г. Бургдорфа в Эмментале. Лишь в 1843 г. он смог стать гражданином Базеля. Произошло это благодаря женитьбе на Шарлотте Антонии Гис, которая принадлежала к уважаемому базельскому семейству и обладала правами базельской горожанки. Благодаря этому ее муж без специальных налогов приобрел права потомственного гражданина Базеля. Это было существенным обстоятельством, облегчившим в дальнейшем карьеру его сына. Родство с семейством Гис еще большее значение в дальнейшем приобрело для Фридриха Мишера, сына Иоганна.

Фамилия Гис восходила к известному государственному деятелю, историку и стороннику профранцузской ориентации швейцарской политики Петеру Оксу из Базеля (прадед Ф. Мишера). В начале XIX в. угроза аннексии Швейцарии Наполеоном Бонапартом (хотя в 1803 г. он покончил с Гельветической республикой, издав «Акт о медиации», восстанавливающий государственное устройство Швейцарии) вызвала в маленькой горной стране мощный патриотический подъем и волну антифранцузских настроений. И дед почел за благо сменить свою фамилию, слишком ассоциирующуюся с непопулярными идеями сближения с Францией, на новую — Гис. Эта семья дала Швейцарии одного из крупнейших биологов — гистолога и эмбриолога Вильгельма Гиса, профессора анатомии и физиологии Базельского университета в 1857—1872 гг. Он был братом Шарлотты Мишер-Гис и родным дядей Фридриха Мишера. Из всей семьи именно он оказал на Фридриха Мишера наибольшее влияние. Ф. Мишер впоследствии сменил Гиса на посту профессора анатомии и физиологии Базельского университета. Контакты с Гисом оказали очень большое воздействие на формирование личности Ф. Мишера-ученого. Их переписка — самый важный источник его научной биографии и свидетельство широты замыслов, которые, к сожалению, далеко не все получили воплощение в жизнь.

В. Гис был также и тем человеком, который первым и в полной мере оценил непреходящее значение трудов Ф. Мишера. «Преклонение перед Мишером и его работами с течением времени не исчезнет,— писал он в предисловии к посмертному изданию трудов своего племянника,— и факты, найденные им, а также его продуманные замыслы станут семенами, которые в будущем дадут богатый урожай» [2, с. III].

Отец Ф. Мишера в 1844 г. получил профессуру по патологической анатомии в Бернском университете, где одновременно работал врачом в университетской клинике. В 1850 г. он снова вернулся в Базельский университет, где был избран профессором патологической анатомии. Он стал очень популярным и уважаемым в городе врачом. Интересно отметить одну его черту — он вызывал к себе доверие и был доверенным лицом многих людей не только как врач. Эта черта, по-видимому, оказала существенное влияние на весь строй жизни в его доме и на воспитание детей.

Фридрих Мишер родился в Базеле 13 августа 1844 г. Он был старшим из пяти братьев. Семья Мишеров вела активную интеллектуальную

жизнь. Отец и мать были очень схожие характерами, но сердечные и строгие к самим себе, терпимые к взглядам других людей. Они были всегда готовы помочь другим советом и делом и стремились привить эти качества детям. Эта атмосфера семьи позволила Ф. Мишеру преодолеть юношескую робость, которую его родственники связывали с физическим недостатком — плохим слухом, и включиться в кружок молодежи, центром которого он вскоре стал. Друзья ценили добросердечную обстановку в доме Мишеров, надолго сохранили о нем память. Теплая обстановка дома содействовала раннему развитию мальчика. В семье имелась хорошая библиотека. Фридрих много читал и научился усваивать и использовать прочитанное. Семья была музыкальной, и у него сохранилась любовь к музыке на всю жизнь.

Во время учебы в гимназии Ф. Мишера отличали большие способности и добросовестность. Он окончил гимназию одним из первых и в выборе профессии решил последовать по стопам отца. В 1861—1863 гг. его имя можно найти в списке слушателей Университета в Базеле. Этот список очень небольшой, да и из товарищей по университету многие умерли молодыми, некоторые — еще в студенческие годы. Самым способным студентом в университете был Мишер. Юношеское уважение друзей к нему и его семье выразилось в избрании его в правление Студенческого союза — обстоятельство очень существенное для условий Швейцарии, где студенческие союзы играли в середине XIX в. важную роль в общественной жизни.

Получив основы медицинского образования в Базеле, в 1864 г. Мишер на один семестр отправляется в Геттингенский университет в лабораторию Ф. Велера. В Геттингене он одновременно слушает лекции В. Краузе, а также посещает клиники Шварца и Хассе, последнего он называет позднее идеалом клинициста. Показательно, что Мишер работал также в лаборатории Вёлера, где изучал основы практической химии. Это свидетельство тому, что он придавал большое значение знаниям в области химии для всех, кто избрал профессию врача. Трудно сейчас сказать, рассчитывал ли он использовать их в клинических анализах или же он уже тогда ориентировался на экспериментальную работу в области медицины или физиологии с использованием химических методик.

После возвращения в Базель Мишер не смог сразу вновь приступить к занятиям: он тяжело заболел тифом. Последствия этой болезни, часто смертельной в те годы, мучили его довольно долго. Только в 1866 г. осенью он смог приступить к занятиям. В 1868 г. им был сдан докторский экзамен в Базельском университете, и он получил степень доктора медицины.

Перед Мишером стал вопрос о дальнейшей специализации. Интерес к теоретическим вопросам, который он проявил во время учебы, говорил за продолжение научной карьеры. Однако отец сумел убедить сына и поддерживающего его В. Гиса, что научная работа должна совмещаться с работой практикующего врача. Может быть, частичная глухота Ф. Мишера повлияла на выбор специальности — отологию. Но интерес к отологии у Мишера так и не проявился (или быстро угас): уже весной 1868 г.

молодой доктор медицины уезжает в Тюбинген. Решающую роль в этом сыграл В. Гис, увлекший племянника проблемами гистохимии.

В. Гис считал, что проблемы развития тканей и их морфологии следует и можно решать только на химической основе. Он обратил внимание Ф. Мишера на важность изучения ядра клетки: пути для его изучения надо искать в изолированном виде, но технических приемов такой изоляции ядер клеток еще не существовало. Гис считал, что Мишер должен продолжать исследования в Геттингенском университете, но предварительно повысить свое физиологическое и физиолого-химическое образование, прослушав лекции в Берлинском университете (а может, и поработав в лабораториях) у В. Кюне и Э. Дю Буа Реймона. Однако Мишер не захотел уезжать далеко от Базеля и поехал в Тюбинген, ближайший к Швейцарии немецкий университетский город. Этот выбор, возможно, не был случайным или эмоциональным. В 1865 г. в Тюбингенском университете впервые в Германии был открыт естественно-научный факультет. Произошло важное событие — формальное отделение физиологии как науки от медицины в процессе преподавания. Надо подчеркнуть, что это было чисто институциональное отделение. Пожалуй, именно в эти годы физиология как никогда быстро стала превращаться в фундаментальное основание медицины, потеснив анатомию.

В Тюбингенском университете было, однако, и еще одно новшество. Ф. Гоппе-Зейлер (1825—1895) организовал первую в мире специализированную лабораторию физиологической химии, сделав шаг к профессионализации биохимии. Именно туда решил отправиться Мишер, причем с совершенно определенными планами — начать изучение клеток методами химии. Он понимал все методологические трудности своего предприятия. Это видно из того обстоятельства, что, перед тем как начать работу у Ф. Гоппе-Зейлера, Мишер предварительно поработал в том же Тюбингенском университете в лаборатории А. Штрекера, известного химика-органика, вошедшего в историю биохимии благодаря осуществленному им первому синтезу аминокислоты — аланина. Штрекер был прекрасный методист, и Мишер многому у него научился.

Здесь надо сделать еще одно отступление. Сама мысль заняться изучением содержимого живой клетки методами химии и тем более попытаться использовать методы химии в препаративно-биохимических целях (а Мишер предполагал, что ему удастся выделить из клетки ядра и, возможно, другие уже известные к тому времени внутриклеточные образования) казалась не только абсурдной, но и принципиально методологически неправильной. Клетка казалась коллоидным образованием: протоплазма — коллоидное образование, окруженное оболочкой. Ядро — тоже коллоидное образование, плавающее в протоплазме, и т. п. Поэтому большинство биологов полагали, что химическое вмешательство просто разрушит тонко организованное образование — протоплазму: все «биологическое» при этом будет безвозвратно потеряно. Ведь это были времена, когда в биологии царил великий Л. Пастер. Только в 1857 г. он доказал, что брожения — результат деятельности различных видов микроорганизмов. В противовес «химической» теории Ю. Либиха он утвердил свою

«организменную» концепцию, ввел представления об «организованных» и «неорганизованных» ферментах, чем сильно ограничил тот редукционный путь развития цитологии, который вел к формированию биохимии и объективно был методологически наиболее прогрессивным в конце XIX в.

Таким образом, Мишер рисковал не только встретить непонимание со стороны большинства биологов, но даже попасть в число еретиков от науки. И он понимал, что, не имея права на ошибку, он должен быть прочно вооружен методически.

Только после работы у Штреккера Мишер сумел выбрать объект исследований и окончательно уточнил тему: выделение ядер из лейкоцитов. Для выделения он использовал гной, который ему пришлось собирать с повязок, получаемых из хирургической клиники университета. Материал не очень приятный и в общем не идеальный. Мишер учился очищать гнойные клетки, экстрагировать их без нарушения структуры ядра, разрабатывал методы микроскопического контроля.

Подробнее о работах Мишера и значении их для своего времени мы расскажем ниже. Сейчас скажем только, что в тех примитивных условиях, в которых приходилось работать всем сотрудникам Гоппе-Зейлера, Мишер провел свое исследование удивительно быстро. Уже весной 1869 г. он в письме В. Гису сообщил о том, что ему удалось выделить специфическое ядерное вещество, которое он назвал нуклеином. В течение лета он исследовал это вещество, отрабатывал методику выделения и доказал, что нуклеин широко распространен и в нем содержится фосфор. В целом работа была закончена и написана Ф. Мишером в 1869 г., когда он вернулся на каникулы в Базель.

«На моем столе лежит запечатанный и надписанный пакет. Это моя рукопись, которую я подготовил к отправке. Это первый шаг к научной общественности»,— сколько надежды звучит в этих словах. Мишер был уверен, что работа будет быстро опубликована, ведь Гоппе-Зейлер пропагандировал труды своей лаборатории и издавал специальные сборники работ своих учеников. Но Гоппе-Зейлер с публикацией статьи Мишера не торопился. Мишер даже писал родителям: «Относительно моей работы, которую я послал Гоппе-Зейлеру, я стал сомневаться — получил ли он ее? Я еще раз написал Гоппе-Зейлеру». Как видите, Гоппе-Зейлер даже не ответил Мишеру.

А в лаборатории происходило следующее: Гоппе-Зейлер начал энергичную проверку работы — он повторял ее сам и поручил осуществить выделение нуклеина из других источников (эритроцитов птиц и змей) своему ученику из Венгрии Палу Плосу. Он сомневался в том, что Мишеру удалось действительно получить вещество, ранее не известное науке,— представителя нового класса органических соединений. Хотя на протяжении всего XIX в. происходил непрерывный процесс расширения границ органической химии, но все же обстоятельства выделения нового вещества были не совсем обычны, да и вещество тоже было особым. Весь 1870 г. ушел на проверку открытия Мишера, и Гоппе-Зейлер был вынужден признать правоту своего ученика: действительно, открыто новое, не известное науке вещество, да еще связанное с одним из важнейших

биологических объектов. В очередном сборнике трудов Тюбингенской лаборатории (за 1871 г.) статья Мишера вместе со статьями Гоппе-Зейлера и Плоса была наконец опубликована.

За это время Мишер тоже не бездействовал. Вернувшись осенью в Тюбинген, он попытался получить нуклеин из наиболее перспективного, с его точки зрения, объекта — куриного яйца — гигантской клетки с огромным ядром, именно так представлял свой объект Мишер. Эта работа была неудачной. Хотя Мишер и сообщил о выделении нуклеина, но на самом деле то, что ему удалось получить, было, вероятно, скорее смесью вителлина и фосфорсодержащих белков куриного яйца. Эта работа была первой в серии работ, составивших в конце XIX — начале XX в. целое направление, основанное на ложных открытиях нуклеина в различных объектах. Мишер впоследствии таких ошибок уже не совершал.

Одновременно он поместил в сборнике «Дополнительные замечания» весьма примечательный документ: первые заключения о возможных физиологических функциях нуклеина.

Задержку Гоппе-Зейлером публикации статьи Мишера иногда истолковывали как проявление прохладного или даже отрицательного отношения учителя к ученику (если можно применить такие определения к Гоппе-Зейлеру и Мишеру). На самом деле отношения были дружескими и взаимно уважительными. Отношение Гоппе-Зейлера к работе Мишера хорошо видно из вводной части к его собственной статье, помещенной рядом со статьей Мишера, которому он полностью отдает пальму первенства. Гоппе-Зейлер писал: «Благодаря данным исследованиям Фридриха Мишера не только прогрессируют знания о составе гноя по сравнению с предыдущими десятилетиями, но впервые стало возможным понимание химической конституции простой клетки и ее ядра. Несмотря на то что я полностью знаком с тщательностью исследований Фридриха Мишера, я все же имел сомнения в его данных. Я повторил часть его работы, особенно ту, которая касается ядерного вещества, названного нуклеином. Все данные, полученные Мишером, я проверил, и последние полностью подтвердились» [3, с. 486].

Мишер также испытывал глубокое уважение к Гоппе-Зейлеру. Но это — уважение сложившегося ученого к более эрудированному собрату, а не к учителю в полном смысле этого слова. Мишер не нуждался в идеях, он стремился лишь получить то, что необходимо для утверждения своих собственных предположений. Он писал: «Общение с Гоппе-Зейлером только тогда научишься ценить, когда углубишься в него... Он знает весь материал, связанный с гистологией, с одной стороны, и химией — с другой, и предостерегает от множества ошибок, в которые могут впасть его ученики. Поэтому он не продуктивен в своих собственных исследованиях». Здесь ясно видны два важных момента: во-первых, роль Гоппе-Зейлера в профессионализации биохимии, а во-вторых, обособленность этого процесса от прогресса в когнитивной сфере новой науки.

После Тюбингена, но еще до опубликования первой работы, которая сделала Мишера известным в научных кругах, он отправляется на стажировку в Физиологический институт Лейпцигского университета, ру-

ководимый известным физиологом Карлом Людвигом. Физиологический институт (собственно кафедра физиологии с исследовательскими лабораториями) К. Людвига — учреждение необычное. Людвиг был крупным физиологом — он разработал физическую теорию мочеотделения, открыл секреторные нервы слюнных желез, изучал газообмен и деятельность сердечно-сосудистой системы и вместе с русским физиологом И. Ф. Ционом показал роль в ее регуляции открытого ими «депрессорного» центростремительного нерва. Его историческая заслуга — создание уникальной физиологической школы — он имел около 300 учеников. Историк физиологии К. Ротшу называет 39 наиболее крупных из них. Этот список интересно привести, чтобы оценить, сколько в нем будущих «основателей биохимии» в разных странах, с кем мог общаться Ф. Мишер в Лейпциге. Это К. Экхард, А. Фик, В. Кюне, И. М. Сеченов, Ф. Холмгрен, В. В. Пашутин, Хр. Лёвен, Г. Г. Кронекер, О. Гаммарстен, Г. Хюфнер, Э. Дрексель, Л. Лючиани, А. Моссо, И. фон Крис, У. Уелч, В. Хорсли, Т. Лодер-Брантон, Э. Шефер, М. фон Фрей, А. А. Шмидт, А. Уоллер, Р. Читтенден, У. Ломбард, Хр. Бор, Ф. Малль, Р. Тигерштедт, И. Гауле, И. М. Догель, Г. Боудич, У. Гаскелл, И. Ф. Цион, И. П. Павлов, У. Стирлинг, А. Будге, М. Рубнер, О. Франк, Л. Ашер, Э. Фойт, Ф. В. Овсянников и Н. О. Ковалевский, а также фармакохимики О. Шмидеберг и Р. Бём — будущие профессора Тартуского университета.

Людвиг был горячим поклонником эксперимента в биологии, причем эксперимента инструментального. Может быть, именно это и привлекало к нему многочисленных учеников, жаждущих освоить новую технику. Но не менее важным и в значительной степени неоцененным прежде всего для формирования биохимии было следующее: Людвиг был автором своеобразной редукционистской программы в биологии, достаточно гибкой, чтобы вместить, помимо механистического редукционизма, который в нем усматривали, редукционизм системный, открывающий путь к исследованиям тайн клетки. Это было как раз то, что исповедовал Ф. Мишер.

Прибыв в Лейпциг, он, стремясь повысить свое физиологическое образование, попросил Людвига дать ему возможность поработать в его лаборатории экспериментально. Исследования в лаборатории Людвига были далеки от гисто- и цитохимии. Мишеру пришлось заниматься изучением болепроводящих путей спинного мозга. Проблема не привлекла Мишера, он быстро понял, что она слишком сложна, чтобы ответ на нее можно было получить прямым экспериментом на организменном уровне.

Но он изучал лабораторию, сам Физиологический институт. Он ценил Людвига, хотя его собственный стиль мышления отличался от стиля мышления немецкого физиолога, представлявшего все же предшествующее, «добиохимическое» поколение европейской науки. Все, что происходило в институте, для Мишера было великолепной школой. Он не только старался вникнуть в смысл всех проводимых там работ. Он оценивал и интернациональный характер института, где немцы, швейцарцы, итальянцы, французы, русские, англичане, венгры, американцы образовывали многоязычную, но сплоченную научную семью (Мишер говорил о том, что

в лаборатории работает «даже настоящий магометанин», «Шедив», как называл его Людвиг,— это был египтянин, мечтавший стать профессором физиологии в Каире.

Мишера очень привлекал и стиль общения в институте. Ядро составляли молодые исследователи, сплоченные, поддерживающие друг друга в работе и сохранявшие тесные дружеские и научные связи на многие годы даже после того, как покидали лабораторию. Это обстоятельство сыграло важную роль и в судьбе самого Ф. Мишера и его научного наследия: О. Шмидеберг, с которым он познакомился у Людвига, принял активное участие в подготовке к печати незавершенных трудов и научных дневников Мишера. Для всех работавших в институте была характерна поощрявшаяся руководителем свобода общения, критики и обсуждения научных проблем. Может быть, поэтому ученики Людвига развили столь много достаточно широко расходившихся научных направлений.

Позднее, отдавая дань тому, что он получил у Людвига, Мишер писал Гоппе-Зейлеру: «Почти все современные школы представлены учениками или бывшими ассистентами Биддера и Шмидта, Фойта, Гельмгольца, Дю Буа Реймона, Кюне, Реклингаузена, Брюкке и др. Каждый приносит что-то свое, и даже я сам как посланник Вашей лаборатории имею право, что касается дел, связанных с гемоглобином, давать мудрый совет».

В. Гис впоследствии, обрисовывая взаимоотношения Людвига и Мишера как ученых, отмечал, что интересы профессора были направлены на расшифровку сложных физиологических процессов, Мишер же считал, что более краткий путь к этой цели — упрощение объекта. Людвиг всегда следил за судьбой Мишера. Пережил своего профессора Мишер лишь на несколько месяцев — Людвиг умер 23 апреля 1895 г. Перед смертью он написал больному Мишеру в Давос два письма, проникнутые трогательной заботой и показывающие, что Людвиг прекрасно оценил историческое значение трудов молодого ученого. Он писал: «Терпение легче проповедовать, чем испытывать самому, и я знаю, что значит отказаться от работы, полной перспективы... Вы создали нечто непреходящее, сделали понятным ядро — центр всей жизни, разложив его на вещественные компоненты. Сколько бы в течение будущего столетия не исследовали клетку и излагали результаты, Вашу работу благодарные потомки будут всегда помнить как путеводную» [4, с. 11].

Перед отъездом из Лейпцига Мишер вместе с американским стажером Людвига Г. Боудичем (будущим основателем американской физиологии) и норвежцем А. Ворм Мюллером выполнил исследование, посвященное вопросу поглощения кислорода гемоглобином. Эта работа, несомненно, повлияла на исследование Мишером проблемы дыхания в условиях высокогорья и разреженной атмосферы. Из Лейпцига Мишер вернулся в Базель и продолжал там физиолого-химические исследования (о них мы говорили выше), пытаясь выделить нуклеин из птичьих яиц.

Результаты этих исследований поставил под сомнение А. Кёлликер (позднее В. Флеминг и Э. Страссбургер опровергли их экспериментально).

Мишер признал критику вполне справедливой, отметив, что в яйце птиц содержится «белково-фосфорная кислота», а не настоящий нуклеин.

В Швейцарии начинается новый период научно-исследовательской работы и преподавательской деятельности Мишера. Сначала он занимается исследовательской работой в Базельском университете и продолжает эксперименты по физиологии дыхания — изучает процесс поглощения кислорода в аномальных условиях. Одновременно он готовится к получению звания доцента, что дало бы ему право самостоятельного преподавания. В 1871 г. он наконец получает доцентуру в университете. Это обстоятельство позволило В. Гису предложить Мишера как своего преемника по профессуре по специальности «физиология и анатомия» в Базельском университете. Кафедра физиологии и анатомии в те годы была крошечной. Практически она не была рассчитана на ведение исследовательской работы. Сам Гис читал курсы физиологии и анатомии (Мишер из-за увеличившегося объема материала этого делать уже не мог). Кроме того, если гистолога Гиса удовлетворяли скромные условия кафедры, то для Мишера требовалось большее и специально дифференцированное помещение, оборудование, иначе работать по избранной теме было невозможно.

В июле 1872 г. Мишер становится вместо Гиса профессором физиологии. К этому времени он довольно далеко продвинулся в разработке новой темы. Когда Мишер вернулся в Базель, Гис был занят изучением развития икры костистых рыб. В то время для исследования был доступен такой объект, как икра рейнского лосося. Гису содействовали в получении материала базельские торговцы рыбой.

Мишер под влиянием и по совету Гиса решил исследовать ядра молок рейнского лосося. Клетки спермы действительно были даже более удобны для выделения ядер, чем лейкоциты. Головки сперматозоидов — «почти чистые ядра», писал Мишер. Эта работа не только подтвердила данные, полученные в Тюбингене, но и привела к открытию протамина — нового класса белков, а также убедила Мишера, что нуклеин — вещество кислое по своим свойствам. Он считал, что нуклеин спермы, по крайней мере, трехосновная кислота, не полностью насыщенная, так что она может связать еще свободный протамин, образуя солеобразное соединение. Об этих работах, так же как и о работах по дыханию, Мишер сделал в начале 70-х годов несколько сообщений в Базельском обществе естествоиспытателей.

Таким образом, к моменту, когда Мишер возглавил кафедру Гиса, он уже активно работал. Принимая кафедру, он считал, что становится хозяином самому себе и сможет продолжать работу, хотя и в тесноте. Но через два года после вступления в должность он писал, что имеет лишь одну маленькую комнату, которую вынужден делить со студентами. Это, естественно, тормозило работу, а к тому времени им был накоплен прекрасный материал для анализа — «2 фунта протамина и 3 фунта нуклеина». Представляете, какую титаническую работу надо было проделать, чтобы в те годы накопить такие количества вещества! Элементный анализ он проводил в коридоре университета. В работе принимал участие

сам Мишер и один служитель-лаборант, одновременно помогавший на лекциях по анатомии, зоологии и патологической анатомии. Таким образом, по нашим сегодняшним определениям, Мишер имел в своем распоряжении $^{1}/_{4}$ лаборантской ставки. Но Мишер был удовлетворен своей работой: он получал интересные результаты, его эксперименты были хорошо воспроизводимы, методики просты и ясны.

Упорство исследователя, его возрастающий авторитет содействовали выделению дополнительных средств для кафедры. Приобретенное новое оборудование позволило ускорить проведение исследований, но одновременно возросла и преподавательская нагрузка — число студентов в университете увеличивалось. Работу над молоками лосося он начал в 1871 г., а закончил только в 1874 г. весной. Мишер был сильно переутомлен — научной работой он фактически мог заниматься только в каникулы. И Гис уговорил его снова съездить в Лейпциг.

Визит Мишера к Людвигу был недолог: он не мог на большой срок расставаться со своей работой. При этом его увлекли и лекции, которые он читал в Базеле. Трудно сказать, результатом чего это было — то ли добросовестности Мишера, который не мог небрежно относиться к любой работе, то ли он увидел в лекциях путь к отработке обобщающих положений, но он все более втягивался в эту работу. Он готовил тексты, а также препараты и приборы для демонстраций на лекциях. Текст лекций он всегда готовил по оригинальным материалам, все время обновляющимся. Эти материалы с большим трудом укладывались в форму, доступную для восприятия студентами, зато становились для Мишера своеобразными заготовками будущих, лелеемых им сводных трудов.

Одновременно он обновлял и форму преподавания. В университете им был организован физиологический кружок, где студентам предоставлялась возможность выступать с самостоятельными сообщениями —своеобразными «лекциями для собственного профессора». Но это были не просто семинары: они превратились в своеобразные практические занятия, только по особой, отличающейся от университетского курса того времени программе. Студенты не только знакомились с проблемами передачи нервного импульса, явлением электротонуса или сокращения мышц, но и экспериментировали, повторяя самые новые открытия в данной области.

В эти годы он поддерживает активную переписку с В. Гисом, перешедшим в Лейпцигский университет. Многими данными для биографии Мишера мы располагаем лишь благодаря этой переписке. Характерно, что Мишер достиг уровня своего первого наставника — он уже дает советы (и часто весьма критические) по поводу готовящегося Гисом фундаментального труда, посвященного проблемам эмбрионального и индивидуального развития. Значение советов Мишера (которыми Гис не пользовался) было оценено (в том числе и самим Гисом, с запоздалым сожалением) лишь через несколько лет.

Напряженная преподавательская деятельность, на которую Мишер временно полностью переключился, все же не смогла полностью отвлечь его от исследовательской работы. Он снова вернулся к экспериментам с куриными яйцами, пытаясь обнаружить ошибку и уточнить данные о

составе желтка, который он считал гигантским клеточным ядром со всеми типичными свойствами. Ученый продолжил и изучение ядерного вещества спермы лосося, видя в этом свою главную проблему, но одновременно заинтересовался вопросом изменения обмена веществ в организме лосося в период созревания спермы. К этим исследованиям он приступил осенью 1875 г.

Работа стала возможной благодаря Ф. Глязеру — тому самому торговцу рыбой, который содействовал и эмбриологическим экспериментам Гиса, и первым исследованиям спермы, проведенным Мишером. Последний начал исследования в очень большом масштабе. Стремясь накопить достоверный статистический материал, Мишер измерил и взвесил тысячи особей лосося, препарировал мышцы, осуществил их анатомические исследования, провел тысячи химических анализов мышц, печени, селезенки, половых частей рыб, а также крови на разных этапах развития лосося и в различные времена года. Им был собран уникальный материал, часть из которого стала доступна потомкам лишь благодаря трудам друзей Мишера, и прежде всего Гиса и Шмидеберга, только после смерти ученого. Он уже не смог полностью воспользоваться накопленным материалом, хотя многое опубликовал, а также оставил в своих письмах и записных книжках много суждений, позволяющих нам проследить эволюцию его представлений не только о процессах образования спермы, но и о функциях ее ядерного материала.

Лишь одно сообщение на эту тему появилось при его жизни — статья в «Каталоге Международной выставки рыболовства» в 1875 г., когда она проводилась в Швейцарии: это небольшое сообщение по гистологии селезенки лосося.

В 1880 г. Мишер опубликовал статью, посвященную особенностям жизни рейнского лосося в пресной воде. Это своеобразная дань практическим запросам рейнских рыболовов, содействовавших его работе. Он, видимо, думал подготовить обширную публикацию на эту тему, возможно, на основании расширенных новых экспериментов. Во всяком случае, научную часть статьи он назвал предварительным сообщением и обещал дать более подробное изложение экспериментов в каком-нибудь физиологическом журнале.

Эта работа — важная веха в творчестве Мишера. В ней впервые, намеками, очень осторожно он заговорил о главной цели своих исследований. Во-первых, это «химический сперматогенез» — проблема, которая особенно интересовала ученого. Во-вторых, проблема оплодотворения, ее описания с химических позиций.

Однако для понимания этих намеков много дают нам письма Гису. В них Мишер говорил гораздо больше того, что решался опубликовать. Он формулирует в них ряд важных гипотез, предположений, концепций. Но в то же время из писем видно, что он отступил от некоторых, первоначально высказанных им очень перспективных догадок, пытаясь согласовать свои исключительные находки со взглядами своего времени. Так родилась гипотеза о «кариогене» — особом белке ядра с важными биологическими функциями. Но Шмидеберг, проверяя расчеты анализов ядер-

ных белков после смерти Мишера, нашел, что он своими анализами же и опроверг его существование. Мишер говорит об особых капсулах, где образуется якобы нуклеин, или о «нуклеинообразующих клетках», но одновременно пишет задумчиво: «Если головки сперматозоидов должны содержать что-то особенное...».

Во всяком случае, Мишер в 70-х гг. глубоко и внимательно вникает в возможности связи между открытым им нуклеином и процессами оплодотворения. Это он считал предельно вероятным. Ясно, что от этой мысли очень недалеко до связи нуклеина (или каких-то химических структур) с процессами передачи наследственных признаков. Но вспомним, что только за пять лет до Ф. Мишера патер Грегор Мендель опубликовал результаты своих опытов с гибридами гороха. До создания только основ генетики должно было пройти еще почти полвека. А идея о химической природе гена была еще просто фантастическим будущим.

В 70-х гг. Мишер делал доклады в Базельском обществе естествоиспытателей. В 1875—1876 гг. он рассказывал маленькому собранию базельских биологов и врачей о составе яйца, желточных пластинок — тех компонентов, которые необходимы для образования целых клеток. Ученый уже волновал их вопросом: почему яйцо спокойно, как незаведенные часы вплоть до момента оплодотворения? И пытался ответить на этот вопрос с химических позиций. Начался великий процесс формирования химии клетки.

Однако Мишеру в своей работе приходилось обращаться и к другим темам. Так, в 70—80-е гг. он провел ряд исследований по вопросам питания. Они никак не связаны с его научными интересами — Мишер просто выполнял свои обязанности базельского гражданина: от правительства кантона им было получено задание провести экспертизу питания в тюрьмах Базеля. На эту работу ушел целый год — опять сказалась добросовестность Мишера. Сам он назвал эту экспертизу (а она вылилась в целое исследование) самой трудной и неблагодарной работой в своей жизни. Но результаты были так интересны и имели столь большой общественный резонанс, что работа была продолжена в других кантонах. Результаты исследований Мишер был вынужден докладывать перед многочисленными комиссиями и представлять кантональным властям. После тюрем ему поручили обследование организации питания в школах, а также частных ресторанах и кафе. Мишер сильно переутомился.

Однако эта деятельность имела и положительную сторону. Она привлекла внимание к ученому, и после завершения первого цикла исследований по биохимии лосося он получил средства и приступил к сооружению специального здания для нового Физиологического института Базельского университета. Эта работа началась, как полагается, с различных бюрократических шагов. Выделение средств должно было быть вотировано Большим советом университета, который принял соответствующее постановление. Составление сметы и разработка проекта потребовали преодоления множества трудностей. Эта предварительная работа была завершена в 1883 г. Строительство нового здания продолжалось два года, и в 1885 г. новый корпус, получивший наименование «Везалианум» в

честь великого анатома, был построен. Это изящное и современное сооружение отвечало требованиям успешной экспериментальной работы в области физиологии и физиологической химии. Оно в 1889 г. было одобрено как одно из лучших зданий подобного назначения участниками Первого международного физиологического конгресса, проводившегося в его стенах.

Строительство «Везалианума» и переезд в него кафедры, руководимой Мишером, были поворотным моментом в его научной карьере. Были устранены, казалось, все препятствия для научной работы, созданы соответствующая техническая база, все условия. Мишер впервые почувствовал ответственность за начатое им дело — уже как руководитель. Он активно занялся оживлением научной жизни «Везалианума». Увлекся разработкой новой аппаратуры, создал новые приборы и, пользуясь услугами знаменитых швейцарских часовых мастеров, усовершенствовал и построил ряд новых измерительных приборов, прежде всего для изучения процессов дыхания. По его рекомендации был построен сфигмограф Жаке.

Сообщения Мишера о научных работах этих лет отражают увлечение ученого аппаратурным оснащением научных работ. Он публикует сообщения о механизме дыхания (в них описаны новые приборы), печатает данные об улучшении пипетки для подсчета эритроцитов.

При открытии «Везалианума» Мишер выступил с почетной лекцией. Она была посвящена исследованиям дыхательных движений. Ученый намеревался провести к этой лекции собственные эксперименты, но не успел в суматохе строительства и оборудования здания начать исследования, которые его все больше занимали. В лекции он ограничился обзором литературных данных. Но и в этой речи Мишер выступил новатором: недостаток экспериментального материала возместил широкими методологическими обобщениями, по существу, программного характера. Мишер выступил с утверждением необходимости развития нормальной физиологии, за увеличение масштабов исследований организмов в норме по сравнению с патологическими состояниями, а также против экстремальных экспериментов. Он утверждал, что гораздо больший эффект даже для медицинской практики может быть достигнут при изучении не болезненных отклонений, а регуляторных механизмов (включая биохимические, и прямо указывал как на пример таких исследований на изучение содержания кислорода в крови в зависимости от высоты над уровнем моря — эти работы по его указанию проводили ученики).

Ориентация Мишера на нормальную физиологию, по существу, означала революционные изменения в развитии фундаментальных основ медицины, поворот к исследованиям общебиологическим как теоретическим основам практической медицины. Этот переход произошел значительно позже на совершенно новых биохимических и молекулярно-биологических основах, но к пониманию необходимости и закономерности его пришли выдающиеся биологи конца XIX в., и среди них прежде всего Ф. Мишер.

Однако за открытием «Везалианума» не последовал новый взлет исследований. Расширились только преподавательские обязанности. Правда, отношение к ним Мишера качественно изменилось. Жизнь его до начала 80-х гг. представляла собой непрерывную борьбу с различными препят-

ствиями, стоящими перед ним как перед исследователем. Эта борьба, усложненная многочисленными побочными заботами, подорвала его здоровье. И с 80-х гг. он начинает задумываться над тем, кто продолжит и завершит начатое им дело. Проблемы отсутствия материала для исследований, необходимых реактивов, времени, поглощаемого обязанностями профессора,— все это вдруг отступило на второй план. Мишер все внимание сосредоточил на подготовке своих преемников. При этом он избрал путь подготовки немногих специалистов высокого класса, а не обучения всей массы студентов основам физиологических наук.

А. Жаке, один из наиболее близких и любимых его учеников, писал позднее: «Как учитель Мишер выделялся необыкновенной оригинальностью. Его лекции не были простым перечислением фактов с демонстрацией экспериментов. Он старался ясно показать причины явлений и связи между отдельными функциями органов. Те, которые не всегда посещали лекции или мало интересовались физиологией, часто с трудом могли следить за его далеко идущим ходом мысли. А те, которые старались понять и поработать дома, имели возможность учиться у Мишера такой физиологии, какая ни в одном немецком университете не преподавалась» [5, с. 3].

Лучшие его ученики очень быстро понимали, что для них важнее всего поддерживать тесное общение с учителем. Мишер рассеивал идеи и делился с ними самым сокровенным, как будто боялся, что не успеет раздать все, чем он владел.

И сам Мишер подчеркивал, что университет готовит исследователей — людей, которые должны быть ориентированы сразу на решение ключевых задач. Он писал: «Задача делает исследователя, и кто в юности не научился решать серьезные проблемы, позже этому никогда не научится».

Мишер искал среди своих учеников не адептов, а сотрудников — людей, которые могли бы работать с ним, а не просто распространять его учение. «Профессор без молодых сотрудников,— писал он,— это только обрубленная ивовая ветвь».

Но Мишер считал, что он поздно занялся целеустремленной подготовкой учеников. Среди уже окончивших кафедру практически не было людей, способных помочь ему в исследованиях. Ученый с горечью писал А. Жаке (единственному ученику первого поколения, продолжавшему сотрудничать с учителем): «Из-за недостатка учеников, специализирующихся по физиологии, я далек от того, чтобы упрекать наших студентов. Они, как видно из занятий кружков и результатов экзаменов, все же лучше, чем где-либо. Главная вина лежит на мне как учителе. Если бы студентам я внушал идею, что все, что называется физиологией, так же интересно и играючи преодолимо, я бы, наверное, имел большой успех как преподаватель и, наверное, некоторые из них чаще осмеливались бы войти в лабораторию. Но такое преподавание я считаю обманом».

Мишер предпринимал все новые попытки развить именно биохимическое направление в Базельском университете. По его инициативе на кафедре физиологии создают новую должность профессора по специальности физиологическая химия. По рекомендации Мишера на эту должность при-

глашают Густава Бунге, работавшего до этого профессором на кафедре физиологии Тартуского университета (с его именем связана одна из славных страниц истории русской биохимии — Бунге был руководителем Н. И. Лунина, одного из основоположников витаминологии). Мишер надеялся, что Бунге поможет ему наладить исследования, связанные с изучением обмена веществ.

Но сотрудничество между двумя учеными не наладилось. Бунге, попав в Базель, стал все больше отходить от чисто биохимических тем. Его стали привлекать общефизиологические, медицинские, а также социальные проблемы. Бунге и Мишер — талантливые ученые, но очень разные люди. Прежде всего Бунге затмил Мишера как преподавателя. Слушать Бунге для студентов было одно удовольствие. Он обладал отточенной техникой лектора, говорил краткими, содержательными фразами. Материал подавался им по ясной логической схеме, легко складывался в единое целое и хорошо запоминался. Демонстрации он проводил спокойно, они носили только учебный характер, никаких неожиданностей на его лекциях не было и быть не могло.

Мишер же читал лекции беспокойно. Ему было очень трудно наладить контакт со слушателями. Во время лекции он продолжал думать над теми проблемами, которых касался. Поэтому Мишер преподносил слушателям больше проблемного, чем основополагающего, материала. Он забывал, что перед ним сидят люди, которые в большинстве своем стремились стать хорошими врачами, а отнюдь не исследователями. Ученый ошибался, думая, что они обладают интересом и знаниями, которых требовал преподносимый им материал.

Кроме того, Бунге стал претендовать на исследования, и Мишер принужден был делить с ним помещения в «Везалиануме». Поэтому отношения между двумя профессорами стали вскоре просто напряженными.

Столь же внешне неудачными были лекции Мишера в Базельском обществе естествоиспытателей. Он так же тщательно готовился к ним, как к лекциям в университете, и так же мало учитывал, какая аудитория будет его слушать. Ученый стремился познакомить своих коллег с новейшими достижениями и самыми последними своими размышлениями по поводу предлагаемого материала. Но при этом чаще всего оказывалось, что Мишер далеко обогнал в своих познаниях базельских врачей и биологов-натуралистов, составлявших основной контингент членов общества. Так, о его лекции 28 октября 1893 г., в которой Мишер сообщал о результатах исследований влияния высоты на состав крови, рассказывал его товарищ по Лейпцигу Г. Хюфнер, работавший в то время в Тюбингене. По мнению Хюфнера, то, о чем говорил в докладе Мишер, было доступно только двум слушателям, и то приезжим: доктору Либермайстеру из Тюбингена и доктору Каммереру из Ураха.

И Мишер вновь стал пытаться наладить научную работу, но одновременно поддерживать контакты с многочисленными коллегами и друзьями. С момента завершения постройки «Везалианума» жизнь его была подчинена только работе. Все время поглощали подготовка к лекциям,

а затем научная работа. В 80-х гг. бо́льшая часть времени уходила на первое, только с начала 90-х он снова погрузился в научную работу. Условия работы стали лучше, но Мишер изнурял себя перегрузками. Он имел одного помощника — некоего Вейдемана, который был хорошим аналитиком, но к самостоятельным исследованиям был не способен,— Мишеру приходилось всю основную работу делать самому. Кроме того, материал, с которым он работал, требовал особых предосторожностей: Мишер очень скоро понял, что исследуемые им ткани животных необходимо обрабатывать быстро и на холоде, иначе неизбежны значительные потери анализируемого нуклеина. И Мишер трудился в неотапливаемом помещении. Это приводило к частым простудам и в конце концов стало причиной его смерти, так как он заболел туберкулезом.

Кроме того, Мишер практически не отдыхал. Хотя он очень любил общение и старался проводить время с друзьями, но делал это всегда только за счет сна. Незадолго перед этим он женился, но внутреннее беспокойство мешало ему уделять много времени семье. Известно, что он даже опоздал в церковь к венчанию из-за того, что не мог прервать опыт. Как анекдот рассказывали в Базеле, что когда в лаборатории Мишера не хватало посуды, то он брал из дома чашки из семейных севрских сервизов, которые жена тщетно пыталась спасти.

С 90-х гг. Мишер уже с учениками продолжает работы по дыханию и одновременно проводит эксперименты со спермой и икрой лосося. По мере того как в тесное общение с ним вступало все больше людей, для окружающих стала открываться личность Мишера, до этого заслоненная чисто внешними впечатлениями, которые ученый производил на окружающих. Его считали неуверенным, робким интровертиком, занятым своими мыслями, полностью отключенным от окружающего мира. Это впечатление подкреплялось тем, что Мишер был близорук и с детства обладал дефектом слуха. Но стоило поговорить с ним, как выяснялось, что он не только прекрасно разбирается во всех проблемах окружающего мира, но занимает активную позицию по большинству вопросов, оценивая их при этом совершенно объективно и правильно. Мишер всегда был готов включиться в решение практических задач и справлялся с этим лучше большинства своих коллег. Примером может служить и постройка «Везалианума», которую он начал с нуля и успешно довел до конца, причем в максимально короткие сроки. Другой пример — организация и созыв им в 1889 г. Первого Международного физиологического конгресса. Опыта проведения таких мероприятий тогда не было, но Мишер справился с делом блестяще — традиция этих конгрессов уже не прерывалась.

Большое внимание он уделял и социальным вопросам. Помимо участия в обследовании организации питания заключенных в тюрьмах, он контролировал организацию питания в ресторанах и кафе, принадлежащих частным лицам, а также питание детей в закрытых учебных заведениях. Знакомство с последними привело Мишера к мысли создать специальные дома отдыха для больных или ослабленных детей. Он не только принял участие в организации таких домов, но отдал под первое

такое заведение в Лагенбрюке собственный дом, а затем для расширения его еще один принадлежащий ему дом.

При этом все отмечали его исключительную скромность, обязательность и честность — эти личные качества влияли и на отношение к работе: еще долгие годы, все, кто знал Мишера, отмечали исключительную точность, аккуратность и продуманность его экспериментов. Все эксперименты Мишера позднее с легкостью воспроизводились последователями, несмотря на то что методики, которыми пользовался Мишер, были достаточно сложны.

Однако Мишеру не удалось закончить ни одно из начатых им дел. Он не завершил ни одну из своих экспериментальных программ, не написал руководство по общей гистохимии. Весной 1894 г. он тяжело заболел. Хронические простуды, которыми Мишер страдал почти все последнее десятилетие своей жизни, перешли в быстротечную форму туберкулеза. Он вынужден был поехать в санаторий «Турбан» в Давос. Оттуда ученый уже не вернулся.

Болезнь Мишера протекала тяжело, быстро прогрессировала. Однако он до самых последних дней думал о работе, что видно из писем, которые он писал друзьям и близким из Давоса. Ученый волновался, что обработка материалов его исследований задерживается, и надеялся, что сам сможет довести ее до конца. И ни разу не пожаловался на свою судьбу, относясь к своему состоянию оптимистично.

Но Мишер был оптимистом вплоть до лета 1895 г., когда в Давос поступило письмо с предложением отказаться от профессуры. Он понял, что не выздоровеет. Его ученик Ф. Зутер назвал это письмо «ударом булавой». Последние дни Мишера были трагичны.

Но Мишер оставался скромным и достойным человеком. Когда незадолго до смерти он получил письмо от президента республики И. Изелина с официальной благодарностью за все, что ученый сделал для страны, он ответил следующим образом: «Я не думаю, что одновременно с обычным выполнением своего профессионального долга мною совершено что-либо сверх того, что делают в соответствии с традициями нашего общества многие другие граждане Базеля, принадлежащие и не принадлежащие к ученому сословию, подчиняясь конкретным заданиям, стечению обстоятельств или сложившимся условиям, в соответствии со средствами и возможностями каждого человека. Я сделал не больше того, что требовало бы особого внимания. Но я предполагаю, что высокое правительство хотело доставить радость своим знаком внимания тяжело больному человеку» [6, с. 16].

26 августа 1895 г. Фридрих Мишер скончался.

В одном из последних писем он писал, что никогда не мог достичь сознания, необходимого для счастья человеческой жизни, и говорил о «чувстве школьника, не выучившего свой урок».

Его смерть потрясла друзей. В. Гис и некоторые из коллег Мишера, прежде всего О. Шмидеберг и Р. Бём (оба они какое-то время работали в Тартуском университете), собрали письма Ф. Мишера и его статьи, разбросанные по многим редким периодическим и полупериодическим

изданиям. О. Шмидеберг обработал материалы лабораторных дневников Мишера и дописал за него последнюю статью. Все это вместе было издано в виде двух сравнительно небольших по объему томов в 1897 г. в Лейпциге. Таким путем коллеги стремились спасти труды своего друга от забвения. Но войны, прокатившиеся по Европе, сделали и их библиографической редкостью.

ТВОРЧЕСТВО

Бессмертным Ф. Мишера сделало его открытие нуклеиновых кислот. Он впервые выделил нуклеиновые кислоты в Тюбингенской лаборатории Ф. Гоппе-Зейлера в 1869 г.

Исследования Мишера, связанные с изучением нуклеина (или нуклеиновых кислот, но это название появилось позже), составляют первый цикл его трудов. Оценивая эти исследования, необходимо подходить к ним с точки зрения их значения для современной Мишеру науки, а также и с точки зрения исторической, так как последствия этого открытия были поистине огромны.

Несколько слов необходимо сказать о самой постановке проблемы. Речь идет и о методологических аспектах предпринятого исследования, и о чисто методическом его значении, а также и тех перспективах, которые могли открыться перед биологией в целом, если исследование завершится успешно.

Лишь в 1830 г., всего за четыре десятилетия до исследований Мишера, появился термин «протоплазма», введенный Я. Э. Пуркинье. Конкретно с содержимым клетки понятие это связал Г. фон Моль в 1846 г. Но еще в 1835 г. Ф. Дюжарден дал первое достаточно подробное описание протоплазмы, относя последнее определение только к содержимому одноклеточных организмов. Он использовал другой термин — «саркода», но охарактеризовал содержимое клетки как клейкую гомогенную массу, прозрачную, но преломляющую свет немного сильнее воды и слабее масел. В 1850 г. Ф. Кон доказал, что саркода простейших — это и есть протоплазма. В 1867 г. В. Гофмейстер опубликовал фундаментальную сводку о строении растительных клеток. В ней он дал детальные многочисленные описания агрегатного состояния и свойств протоплазмы. Он отметил при этом, что вода пропитывает протоплазму и что это пропитывание имеет определенный предел.

Но все же цитологи продолжали придерживаться представлений о протоплазме как о коллоидной системе. Лишь Э. Брюкке в 1861 г. высказал мнение, что гомогенная структура протоплазмы не может обеспечить функции клетки, чрезвычайно сложные и в основном еще не познанные. Но Брюкке, описывая в 1863 г. ячеистое строение протоплазмы, все же не отходил от представлений о ее коллоидной природе в целом.

В связи с этим идея выделения ядер из клеток с помощью химических методов казалась еретической. Самое большее, на что рассчитывали цитологи при использовании методов химии,— это получение окрашенных картин, позволяющих обнаружить в протоплазме некие неоднородности,

но в протоплазме заведомо убитой и, скорее всего, безнадежно модифицированной при обработке реактивами.

Поэтому попытка Мишера получить ядра с помощью более или менее простых процедур промывки и осаждения была методологически новым приемом. Она основывалась на постулате: дальнейшее проникновение в тайны функционирования клетки возможно только методами химии.

Выбрав в качестве объекта исследования лейкоциты, Мишер основывался на соображении, не совсем правильном с современной точки зрения. Он полагал, что они являются наиболее просто устроенными животными клетками. Этот материал оказался также доступным в Тюбингене — Мишеру просто передавали пропитанные гноем бинты из университетской клиники. Он смывал с них гной для препаративной работы. Здесь его подстерегала первая трудность. Обычно для подобных операций — сбора гистологического или цитологического материала — старались использовать физиологический раствор. Рассуждение в основе этого лежало простое: ткани и клетки сохранялись в среде с концентрацией солей, близкой к концентрации солей в плазме. Но лейкоциты в физиологическом растворе набухали, частично разрушались и слипались в желеобразную массу. Выделить из такой массы какие-либо форменные элементы уже не представлялось возможным. Для цитологов это было доказательством коллоидной организации клетки и бессмысленности попыток создать химические препаративные методы для выделения каких-либо субклеточных структур.

Мишеру пришлось подбирать новый растворитель. Он использовал раствор сернокислого натрия (позднее и для других целей он брал и сернокислый аммоний — и эти две соли широко применяли в период расцвета классической препаративной биохимии). В таких растворах лейкоциты легко смывались с бинтов, сохраняли форму, не лопались и быстро осаждались, что и позволило отделять их от плазмы крови и накапливать в значительных количествах.

Начал работу Мишер с классических анализов общего состава лейкоцитов. Для этого он обрабатывал их различными растворителями — спиртом, кислотами и щелочами, солевыми растворами. Не надо думать, что лейкоциты такими методами не изучали и до Мишера. Было проведено значительное число экспериментов по экстрагированию лейкоцитов или эритроцитов солевыми растворами с последующим осаждением различными солями (в том числе тяжелых металлов). При этом получали осадки белковоподобных веществ. Свойства этих препаратов различались, но незначительно. Чаще всего они были похожи на мышечные белки — фибрин и миозин. Такие эксперименты ставил и Ф. Гоппе-Зейлер. Освоив его методику, миозиноподобные вещества выделил из лейкоцитов и Мишер.

Он посчитал эти осадки если не белками, то во всяком случае белковыми комплексами, которые составляли, по его мнению, основу пронизывающих протоплазму коллоидных тяжей. Его эти вещества не интересовали. Он стремился сделать шаг в глубь клетки — от изучения клетки в целом перейти к анализу ее внутренних компонентов, ядра прежде всего.

Но эти препараты «миозиноподобных веществ» фактически были первыми в истории науки препаратами нуклеиновых кислот (а именно дезоксирибонуклеиновой кислоты — ДНК), которые держал в руках исследователь. Ни Мишер, ни Гоппе-Зейлер этого не знали и никогда не узнали. Об этом узнали лишь в 1942 г., когда препаративная биохимия нуклеиновых кислот интенсивно совершенствовалась, появились препаративные центрифуги и было показано, что именно солевые растворы являются наилучшими растворителями для экстрагирования полимеризованной ДНК.

Трудно сказать, почему Гоппе-Зейлер, Мишер и их непосредственные предшественники и последователи не обратили более пристального внимания на эти препараты. А. Мирский в 60-х гг. сказал, что если бы у Мишера была центрифуга, то он получил бы ДНК в ее естественной, полимеризованной форме, а не в деполимеризованной, как это вышло на самом деле. Но это утверждение сомнительно — невозможно говорить, что во времена Мишера не могли быть созданы химические, а не физические методы выделения ДНК из подобных смесей. Это была методическая, а не методологическая проблема. Скорее всего, Мишер просто посчитал (а это было совершенно обоснованно на современном ему уровне развития химии белка), что чистить и разделять полученные им вытяжки — дело, во всяком случае, не первоочередное.

Его целью было ядро клетки. Там с большей вероятностью можно было встретить принципиально новое природное соединение, к тому же связанное каким-то образом с функциями ядра, в то время совершенно неизвестными. Поэтому его путь к открытию нуклеиновых кислот оказался не столь прямолинеен, как можно было бы ожидать на основании ретроспективного анализа истории химии нуклеиновых кислот. Новый путь открылся ему при экстрагировании лейкоцитов щелочными растворами. При этом выпадал какой-то осадок, который выглядел гораздо более гомогенным, чем вышеупомянутые препараты. При слабом подщелачивании он вновь без остатка растворялся. Надо отметить, что это была совсем не случайность — Мишер сознательно стремился выделить «материал ядер клеток». Никто не знал, что это за материал. Никто не предполагал, что ядра можно выделить химическим путем практически целыми. Мишер отмечал лишь, что при микроскопическом контроле ядра, выделяемые им (а он уже был в этом уверен), лишь слегка деформируются. Это принципиальной важности факт — впервые было показано экспериментально, что ядро — организованная, а не коллоидная структура (не «капля ядра в капле протоплазмы»). При этом в отличие от методов окрашивания можно было легко доказать, что артефакты, т. е. переход коллоидного раствора в осадок, не имеют места.

Это было важнейшее открытие. Однако даже в немногочисленных историко-научных работах, посвященных Ф. Мишеру и его открытию, на факт выделения ядер химическими методами не обращали внимания. Объяснение может быть только одно — статьи, где цитировалась работа Мишера, писали практически только биохимики, опьяненные фантастическим прогрессом собственной науки. Историки цитологии очень часто

забывали даже упомянуть Ф. Мишера. Показательна известная книга Е. М. Вермеля «История учения о клетке». Поразительно, но в ней нашлось место для упоминания об отце Ф. Мишера. Автор писал (с. 68): «Он (Й. Мюллер.— *А. Ш.*), несомненно, видел клеточные структуры... Ему были известны и работы Я. Пуркиня и его учеников. Й. Мюллер понимал все важное значение этих исследований и поручил дальнейшую разработку микроскопической анатомии... своим ученикам: Йоганну Мишеру (1811—1871), сделавшему диссертацию по строению кости...» [7, с. 68], но Ф. Мишера и его открытия он не упоминает вообще.

Однако открытие Мишера означало, что в биологии появились новые горизонты в изучении сокровеннейших тайн живой материи. Был сделан принципиальный шаг в реализации редукционистской программы изучения живой материи. Внедрение методов химии в изучение живых объектов было лишь первым шагом (и элементом) к созданию завершенной структуры новой междисциплинарной области — биологической химии — и к формированию интегрирующего направления физико-химической биологии. Для того чтобы этот процесс приобрел определенную форму, должны были быть определены и новые объекты, адекватные возможности новых методов. Выделенное Мишером ядро — несомненная специфическая структура клетки — первый подобный объект.

Таким образом, открытие Ф. Мишера знаменовало начало подлинного перехода к формированию биологической химии. После того как Мишер отделил ядра клеток, он поставил перед собой задачу очистить их от присутствующего в них белка. Это тоже принципиальный методический шаг. Дело в том, что уровень развития цитологии того времени не позволял представить себе иное структурирующее начало (если уж допустить существование такового) в ядре, кроме белка. Поэтому освобождение ядра от белка (а то, что это была не просто очистка, свидетельствовало применение протеолитических ферментов) могло привести просто к растворению выделенных ядер.

Чтобы очистить ядра от белка, Мишер обрабатывал их разбавленной соляной кислотой. Кроме этого, он воздействовал на ядра солянокислым экстрактом тканей желудка свиньи (т. е. неочищенным препаратом пепсина). И ядра при этом не разрушались и не растворялись. Они лишь слегка сморщивались, и это тоже было использовано Мишером в качестве приема микроскопического контроля за процессом выделения ядер.

Полученные таким образом препараты Мишер использовал для определения химического состава ядер клеток. Им было установлено, что очищенные ядра содержат около 13—14% азота и около 2,5% фосфора (все же препараты лишь на $^1/_3$ состояли из ДНК, как было показано позже). Эти данные сильно отличались от результатов анализов белков и других химических соединений, обычно обнаруживаемых в клетке. Результаты исследований позволили Мишеру сделать заключение, что ядра содержат вещество новой, до этого неизвестной природы, возможно, вещество нового класса. Мишер назвал основное вещество ядер «нуклеином» (от латинского nucleus — ядро).

Гоппе-Зейлер повторил эту работу и признал правоту Мишера, подтвердив открытие нового класса соединений.

Дальнейшие исследования Мишера были связаны с изучением содержания нуклеина в яйцах кур. Существовала точка зрения, что яйцо — это гигантская клетка, но в то же время уже высказывались и серьезные сомнения в истинности и абсолютности такого утверждения. В. Гис, изучая тонкую структуру яичного желтка, склонялся к мысли, что в нем имеются если не истинные клетки, то по крайней мере некие их предшественники. В конце концов он высказал утверждение, что открытые в яичном желтке микроскопические частицы, получившие название желточных пластинок, представляют собой истинные клетки, а образуются из ткани типа соединительной в процессе созревания яйца. И Мишер решил проверить это утверждение, полностью понимая доказательное значение биохимического подхода к решению вопроса о наличии ядерного вещества.

Интересно напомнить, что использование анализов содержания ДНК в клетке имело решающее значение для решения вопроса о наличии ядра у бактерий еще в 40-х гг. нашего века. Во всяком случае, О. Бючли, Э. Цетнов и В. Ружичка, которые в 90-х гг. XIX в. и самом начале XX в. отстаивали точку зрения на бактерии как голые ядра, и Ф. Шаудин и А. Гийермон, отстаивающие представление о том, что ядерное вещество в бактериальной клетке не дифференцированно, а диффузно распределено в цитоплазме, могли очень обоснованно опровергнуть точку зрения В. Мигулы и М. Бейеринка, отрицавших существование ядер у бактерий, если бы они воспользовались методологическим приемом (да и методом) Ф. Мишера.

В случае желточных пластинок Мишеру, однако, не удалось получить достоверных результатов. Используя ту же методику, какую он применил для изучения ядер лейкоцитов, он выделил препараты, которые счел нуклеином. Он отметил, что этот новый «нуклеин» отличается по содержанию фосфора, да и азота, хотя здесь отклонение было не столь определенным, от нуклеина лейкоцитов. Мишер не знал еще достаточно определенных характеристик нового вещества, поэтому подумал о возможном существовании значительных отклонений в составе. Он посчитал, что получил подлинный ядерный материал и подтвердил гипотезу Гиса. Но он высказал первые в истории науки смелые суждения о роли химических структур в проявлении специфических свойств ядер клеток.

Эта работа знаменовала первую дивергенцию исследований нуклеиновых кислот. Во-первых, продолжались работы по изучению новых соединений, не прекращались попытки выделения их из различных источников, начались исследования их строения. Во-вторых, стали высказываться суждения о возможной их роли в клетке и клеточном ядре. Эти исследования положили начало двум достаточно независимым линиям изучения нуклеиновых кислот. И историческая судьба этих направлений была различна — они оказались разъединенными, затем слились воедино, дав начало молекулярной биологии, молекулярной генетике, а затем и способствовали рождению мощного направления физико-химической био-

логии. В-третьих, эта работа положила начало исследованиям, достаточно спорным, даже включавшим ложные открытия нуклеиновых кислот, запутавшим вопрос об их составе, местах локализации в тканях, органах и клетках и соответственно приводившим к ложным трактовкам их биологической роли.

Надо отметить также один забытый факт: после открытия Ф. Мишера в конце XIX в. начался настоящий «нуклеиновый бум» — число статей «по нуклеинам» росло, они стали исчисляться десятками, но лишь единицы из них относились к двум первым направлениям. Основная масса статей оказалась посвященной решению таких вопросов, как питательная ценность нуклеина (из-за высокого содержания фосфора), запасная роль нуклеина в организме (как депо фосфора), характеристика различных видов нуклеина (тут было множество совершенно недостоверных сообщений о наличии нуклеинов в молоке, зерне, яичном желтке и т. п.). Одновременно на нуклеин обратили внимание врачи. Было выполнено много интересных, но не всегда достоверных работ о повышении сопротивляемости организма различным инфекциям под действием нуклеина, о лечении ожогов, малокровия и даже злокачественных заболеваний крови.

Что из этих исследований заслуживало доверия и что было ложно, сейчас установить не просто, во всяком случае, требуется серьезная работа историков науки, чтобы восстановить подлинную картину. Но самым важным было то, что изучение нуклеиновых кислот уже не прерывалось. Можно даже утверждать, что это третье направление помогло в какой-то мере выжить и укрепиться исследованиям строения и функций нуклеиновых кислот в клетке, во всяком случае, сохранить интерес к ним, хотя и не всегда правильно ориентированный.

Мишер после пребывания в Лейпциге и возвращения в Базель приступил к выполнению самой блестящей своей работы — изучению нуклеина и других основных компонентов молок лосося. Базель расположен в узкой долине Рейна, при выходе его на равнину, и именно туда стремился рейнский лосось на нерест. Поэтому, когда рыба поднималась к Базелю, она достигала половой зрелости и получить достаточное количество молок не представляло трудности. Ядра в сперматозоидах лосося составляли более $^{9}/_{10}$ всей массы клетки. Это был еще лучший объект для изучения нуклеина, чем лейкоциты. Мишер в течение полутора лет выполнил огромную по масштабам работу (особенно учитывая уровень лабораторной техники только рождающейся биохимии), умел быстро, продуктивно и точно работать. Школа Гоппе-Зейлера не прошла для него даром. Его не могли отвлечь ни заботы, связанные с преподаванием, ни недостаток места и плохие условия: даже анализы ему приходилось проводить по вечерам.

Мишер совершенствовал препаративные приемы выделения нуклеина. Для осаждения клеток сперматозоидов он подкислял их суспензию, затем обрабатывал осадок соляной кислотой для удаления избытка белка и получал таким образом органическое основание, которое отличалось высоким содержанием азота. Около четверти веса сперматозоидов приходи-

лось на это основание, которое Мишер назвал «протамином» (это второе важное открытие Мишера в области химии клеточного ядра). Он дифференцировал протамин от настоящих белков, но все же не сделал заключения о том, что это какое-то особое вещество, как сделал это для нуклеина. После отделения протамина ученый экстрагировал остаток спермы щелочью и получал нуклеин, который составлял почти половину веса сперматозоидов (до 49%).

На этом этапе Мишер сделал важное заключение, показав, что открытый им нуклеин — многоосновная кислота: он содержал много кислотных группировок. Мишер счел, что эта кислота образует своеобразную «соль» с протамином. Он первым попытался, изменяя условия, нарушить равновесие в системе нуклеин — протамин. Ему удалось показать, что добавление раствора NaCl к молокам, промытым уксусной кислотой и спиртом, приводило к растворению протамина, тогда как добавление раствора NaCl к необработанным молокам — к образованию плотного геля, с которым Мишер уже справиться не мог, хотя в нем содержались нативные нуклеиновые кислоты. Однако о том, что его «нуклеин» — молекулярное образование очень больших размеров, Мишер знал, так как он пытался фильтровать его через пергаментный фильтр, через который проходил протамин. Нуклеин фильтром задерживался — это было достаточно необычное поведение для химического соединения.

Исследования нуклеина методами, разработанными Мишером, продолжил ряд ученых. Р. Альтман подтвердил практически все выводы швейцарского ученого и в 1889 г. ввел термин «нуклеиновая кислота», сохранившийся и поныне. Хотя Альтман и модифицировал метод выделения нуклеиновой кислоты, Мишер одобрил новое название и признал результаты своего последователя.

Несколько слов надо сказать и о работах с протамином. Дело в том, что Мишер заинтересовался вопросом «физиологическим», как он говорил— судьбой протамина в процессе развития лосося и его полового созревания. Он провел также первые сравнительно-биохимические исследования содержания протамина в молоках других рыб (карпа). Он также попытался выделить протамин из тестикул быка, но сделать ему это не удалось. Кроме того, протамин «исчезал» в незрелых молоках лосося. Поэтому Ф. Мишер посчитал, что с выделением протамина ему просто повезло, что это вещество типично только для зрелых молок лосося и специальных физиологических функций не выполняет. Лишь приблизительно через десять лет с усовершенствованием препаративных методик А. Коссель открыл второе основное вещество в ядрах — гистон, и начались систематические поиски и изучения протаминов и гистонов в ядрах всех клеток.

Для Мишера еще не существовало иных критериев оценки химической индивидуальности нуклеиновых кислот, кроме элементных анализов этих веществ. Химия нуклеиновых кислот в момент своего зарождения не обладала другими методами, кроме тех, которые были распространены в химии природных соединений в первой половине XIX в. Никаких суждений о строении нуклеиновых кислот он сделать не мог. Ничего не знал

ученый и о протамине и не понял, что это белок. Мишер видел лишь, что присутствие фосфорной кислоты, вернее, ее остатков в нуклеине придает ему кислый характер и делает его принципиально отличным от белков. Но все же первые успехи в расшифровке строения нуклеиновых кислот были достигнуты школой А. Косселя еще при жизни Мишера. Отметим, что в исследованиях по установлению строения нуклеиновых кислот принимала участие первая русская женщина—профессор Е. Ф. Ковалевская-Зазерская, работавшая в 1910 г. у Г. Штейделя. Она была также первой женщиной, работавшей в области исследований нуклеиновых кислот.

Работу с нуклеином Мишер не прекращал всю свою жизнь. Его занимали и чисто химические свойства этого вещества, но одновременно он размышлял о том, зачем оно присутствует в клетке. Напомним, что в 70-е — начале 80-х гг. XIX в. еще ничего не знали определенного о функциях ядра в клетке. В. Гофмейстер в 1867 г. установил, что ядро всегда растворяется перед началом деления клетки. В 1879—1882 гг. В. Флеминг дал описание последовательности процесса непрямого деления, чем содействовал окончательному установлению представлений о митозе. Он уже знал хроматин (и предложил этот термин). Но данные Флеминга Мишер еще не мог приложить к своим данным о нуклеине — связь между ними не просматривалась. В 1888 г. В. Вальдейер ввел термин «хромосомы», но и это для Мишера была далекая цитологическая материя. Вместе с тем в том же году В. Ру разработал теорию митоза и дал биологическую трактовку этого процесса. Этим закладывались основы для соединения данных чистой цитологии с представлениями о составе ядра, накапливаемыми биохимиками.

Была еще проблема оплодотворения. Мишер постоянно возвращался к мысли о возможности исследовать механизм этого процесса химическими методами. Задумываясь о природе оплодотворения, он придавал особое значение ответу на вопросы, не содержится ли в сперматозоидах какое-то вещество (или какие-то вещества), которые служат причиной оплодотворения; не снабдила ли природа сперматозоид и яйцеклетку своеобразной системой со «спусковым крючком» и не имеет ли этот «спусковой крючок» молекулярную природу. Уже имелись определенные основания если не для гипотез, то по крайней мере спекуляций в этом направлении. Уже было накоплено достаточно много данных о таинственных веществах, получивших название «ферментов» или «энзимов». С ними все настойчивее связывали осуществление всех жизненных проявлений. Правда, открытым оставался вопрос о том, функционируют ли ферменты внутри клеток. Взгляды Л. Пастера содействовали укреплению представления о том, что лишь клетка в целом обладает тем свойством, которое понимается под словом «жизнедеятельность». Разрушая ее, мы безнадежно нарушаем механизм действия всех ее химических компонентов. Но все же (эту мысль Мишер развивал в своих письмах (см. раздел «Научная переписка»)) можно было даже в рамках таких представлений допустить существование нефункционирующих механизмов в клетке. Эти идеи было соблазнительно исследовать и с более общих позиций — про-

буждение каких-то механизмов могло иметь место и при прорастании зерна, в ряде процессов развития начиная с эмбрионального. Появились попытки создать «ферментативную» гипотезу оплодотворения. И Мишер решил прежде всего проверить именно ее.

Мишер попытался обнаружить в сперматозоидах лосося наличие каких-либо ферментов. Так как сперматозоиды он считал достаточно чистым материалом, то попытался определить, не обладают ли их белки ферментативной активностью (хотя в то время белковая природа ферментов еще не была доказана). Ничего подобного ему обнаружить не удалось. Тогда, в 1874 г., ученый думал о нуклеине как возможной причине оплодотворения, но идею эту отверг. Его фраза о том, что нуклеин, возможно, служит специальным веществом-причиной оплодотворения, нередко вспоминалась потом биологами и историками науки, для того чтобы утвердить мысль, что Мишер первым предположил, что новое вещество связано с процессами наследственности. Но это не так. Он сам же высказал убеждение, что загадка оплодотворения связана не с одним веществом (это явное проявление «морфологического», а не «химического» мышления): сперматозоид проявляет свои биологические функции целиком, а не отдельными частями. Затем Мишер путем чисто логических построений (но не без влияния Гиса, а нередко ряда достаточно устарелых «физиолого-химических» концепций) пришел к заключению, что оплодотворение — физический процесс, связанный с передачей от сперматозоида к яйцеклетке определенного вида движения, некоего колебания. Это было созвучно старым идеям Ю. Либиха, уже отвергаемым развитием биологической химии. Потом Мишер высказал убеждение, что оплодотворение — «молекулярный процесс», но аналогичный процессу нервного возбуждения мышцы.

Но все это были экспериментально недоказуемые спекуляции. Они были очень далеки от той исследовательской программы, для которой Мишер разрабатывал новую методологию. Хотя Мишер явно находился под влиянием рождающейся кинетической теории, когда говорил о «физико-химических основах оплодотворения» (а, конечно, не воззрений Либиха, хотя качественно его идеи были далеки от точности физических экспериментов), дальнейшие его рассуждения все же вели его в область химии, а не физики. К началу 90-х гг. он попытался подвести под объяснение сущности процесса оплодотворения стереохимическое основание. При этом объяснение его совпало с открытием (ложным, как оказалось очень быстро) специфического вещества в головке сперматозоидов, которое Мишер назвал «кариогеном». Эпизод с кариогеном был слишком краткосрочным (во-первых, появились серьезные сомнения, что такое вещество существует, во-вторых, смерть Мишера прервала его собственные исследования в этой области), чтобы можно было строить на его основании какие-либо заключения о ходе рассуждений Мишера. Но все же именно этот эпизод позволяет нам понять, что Мишер не оценил роль нуклеина в изучаемых им процессах, и это непонимание было обусловлено именно физико-химическим, а не препаративно-биохимическим или цитологическим подходом к объяснениям их. Вместе с тем

характерно, что в 1893 г. в одном из писем Мишер писал о возможностях привлечения стереохимических представлений для решения биологических проблем, и в том числе проблемы соотношения химической и биологической индивидуальности (последовательно этот взгляд развил десятилетием позже Э. Фишер). Он определенно связал возможности образования бесчисленного множества изомеров (при этом Мишер прямо говорит о молекулах белка) с существованием бесконечного многообразия биологических форм. Он также упоминает и наследственность (чего не сделал даже Э. Фишер). Это было высказано им в письме, но ни в одной опубликованной работе Мишер ни о чем подобном рассуждать не решился. И еще одна деталь — Мишер вступил в дискуссию с биологами, которые стали использовать данные о составе клеточных ядер для объяснения открываемых или явлений.

А. Мирский писал: «Мишер впитал в себя все, чего достигла великая школа «молекулярной биологии» XIX в. И Гис, и Людвиг (в лаборатории которого Мишер работал около года) были ведущими представителями той группы биологов, которые были поборниками идеи, согласно которой явления жизни следует анализировать на основе физических наук». И далее он продолжал: «В 1885 г. М. Фостер, профессор физиологии Кембриджского университета, говорил о «новой молекулярной физиологии». Он приводит высказывание Фостера: «Чем больше будут изучать молекулярные проблемы физиологии... тем яснее для всех станет, что исследуемые нами «структура» и «состав» должны в согласии с современным физическим учением рассматриваться под углом зрения важнейшей концепции о способах движения. Изучаемые нами явления не могут быть результатом свойств, присущих различным видам живой материи в вульгарном толковании этого слова; они суть следствия определенных типов движения» [8, с. 84]. Эту точку зрения разделяли и Гис и Мишер. Но не будем забывать о том, что эти воззрения вели и к чисто механистическим выводам. В период формирования биологической химии общая физиология оказалась на перепутьи. Новая методология, основанная на использовании методов химии и физики в биологическом эксперименте, стратегически была необычайно плодотворной и прогрессивной. Но теоретизирование на основе химических и физических знаний того времени вело к упрощенным механистическим схемам, не удовлетворяющим даже сторонников чисто описательной биологии, биологии феномена.

Мишер противостоял не только Г. Бунге, откровенному виталисту, но и Р. Гейденгайну, противнику К. Людвига, утверждавшему активную роль живых клеток, но отнюдь не с позиций витализма. Путь к познанию функций нуклеина через изучение его физических и химических свойств оказался исторически слишком долгим. Биологи, которые были далеки от широкого использования биохимического эксперимента, цитологи и эмбриологи, действовавшие традиционными методами, быстрее поняли роль открытого Мишером нуклеина. На первых порах им не удалось отстоять свои взгляды, но сначала продолжателями дела, начатого швейцарским ученым, были биологи, а не биохимики и химики.

Основатели биологии клетки просто старались тщательно фиксировать события, происходящие в клетке при делении, и в яйцеклетке при оплодотворении. Г. Фоль и О. Гертвиг избрали для изучения процесса оплодотворения яйца морской звезды и морского ежа. В конце 70-х гг. XIX в. им удалось показать, что при оплодотворении сперматозоид попадает в клетку, а затем ядра их сливаются. На первый взгляд это выглядело как перенесение проблемы оплодотворения на новый морфологический уровень, и только. Никаких объяснений это наблюдение не обещало. Но мы уже знаем, что в конце 70-х гг. В. Флеминг изучил процесс деления клетки. Наблюдения Флеминга, а также Фоля и Гертвига объединил Э. ван Бенеден. Он изучал оплодотворение аскарид и показал, что делению клетки предшествует деление хромосом. Он обнаружил, что преемственность процесса связана с хромосомами. Это исследование было опубликовано в 1883 г. Но уже в 1881 г. Э. Захариас, изучая хромосомы, нашел, что именно они построены из нуклеина (или, во всяком случае, из чего-то, очень похожего на него). Правда, свои заключения он строил на основании экспериментов с применением специфических красителей. Хотя к тому времени эта техника была достаточно хорошо разработана, но именно подлинной специфичности, а также достаточно высокой чувствительности к применяемым реактивам как раз и недоставало. Захариас оказался прав. Он доказал, что поглощающие красители структуры и в ядре, называемые хроматином, содержат нуклеин, и доказал это, используя совершенную биохимическую методику, приспособленную для цитохимического эксперимента. Он нашел, что обработка клеток смесью пепсина и соляной кислоты не приводит к разрушению ядра. Ядра при этом сохраняют способность окрашиваться красителями. Однако если такие клетки обработать раствором слабой щелочи, то способность ядер к окрашиванию исчезает.

Слабая щелочь удаляет именно нуклеин.

Захариас изучил множество препаратов, среди которых были и ткани с клетками в процессе деления. Везде хроматин содержал нуклеин (т. е. основным веществом хромосом являлся нуклеин).

Ведущие цитологи того времени, прежде всего В. Флеминг, быстро узнали о выводах Захариаса и полностью признали их. В 1884—1885 гг. появились четыре обзора важнейших работ в области цитологии за предыдущее десятилетие. Авторами их были Э. Страсбургер (ботаник), А. Вейсман, О. Гертвиг и А. Кёлликер (зоологи). Все они отметили исключительно важное значение утверждения, что наследственность связана с хромосомами сперматозоида и яйцеклетки. И вот Гертвиг с полной определенностью отметил, что имеются все основания связать это фундаментальное свойство живого с нуклеином. Он написал: «Думаю, что мои результаты, по крайней мере с большой степенью вероятности, указывают на то, что нуклеин отвечает не только за оплодотворение, но и за передачу наследственных признаков... Нуклеин должен находиться в организованном состоянии до, во время и после оплодотворения, и мы можем рассматривать оплодотворение одновременно как морфологический, и как физико-химический процесс» [9, с. 290—291].

Однако Гертвиг не был первым, кто признал, что нуклеиновые кислоты могут быть генетическим материалом (правда, понятие «ген» еще не было введено в науку, а генетика еще не была создана). В 1882 г. Ю. фон Сакс уже сделал такое допущение и предположил, что нуклеин сперматозоида, скорее всего, отличается от нуклеина яйцеклетки.

Эти статьи, а также упомянутые выше обзоры привлекли внимание цитологов к нуклеину. Во всяком случае, в биологии утвердилось представление о том, что именно ядро является носителем наследственности. В теоретических работах А. Вейсмана и его учении о зародышевой и соматической плазме были заложены основы концепции, развитием которой стала теория гена Т. Г. Моргана.

Мишер однако очень осторожно, если не прямо скептически, отнесся к этим исследованиям. Он не верил в доказательность опытов с окрашиванием препаратов клеток. Эта методика не признавалась им достаточно специфичной и чувствительной. Ученый явно был приверженцем препаративно-биохимических методик, период господства которых наступил лишь в первой половине XX в. Известно высказывание Мишера о «цехе красильщиков» (так он называл цитохимиков), которые «только и обнаруживают в головках сперматозоидов, что хроматин». В посмертно опубликованной статье Мишера есть очень пренебрежительный отзыв о работе Захариаса. Это отношение связывают обычно с идеей Мишера о наличии в сперматозоидах «кариогена». Но, вероятно, дело здесь глубже — это отношение можно связать и с методологическими установками Мишера.

Между тем идея, что именно нуклеин является главным веществом хромосом, получала все большее распространение. В фундаментальной сводке по цитологии Э. Вильсон в 1895 г. писал уже об идентичности хроматина и нуклеина: «Считается, что хроматин очень близок, если неидентичен веществу, которое называют нуклеином... Таким образом мы приходим к замечательному выводу, что наследственность, возможно, обусловлена физической передачей от родителей к потомству одного определенного химического вещества» [10, с. 4].

Это был пик в признании связи нуклеина с осуществлением передачи наследственных признаков в условиях, типичных для развития цитологии в XIX в. Затем стали высказываться сомнения в истинности этих гипотез. Роковую роль в этом сыграли именно методы окрашивания, которым не доверял Мишер. Правда, была и сопутствующая причина — исследования нуклеиновых кислот (прежде всего данные о высоком содержании в них фосфора) стали сближать с исследованиями энергетики обмена веществ и обмена фосфора в организме. Во всяком случае, данные экспериментов по окрашиванию показали, что в определенных стадиях деления клеток хромосомы не обнаруживают (якобы) нуклеиновой кислоты. Вещество же, которое исчезает в процессе деления, не могло, конечно, служить фактором передачи наследственных признаков. Э. Вильсон пытался дать объяснения этим явлениям, при этом оказалось, что он давал совершенно правильное толкование фактам в соответствии с современными данными. Он полагал, что увеличение хромосом перед

делением просто маскирует присутствие нуклеиновой кислоты. Причина этого им усматривалась в увеличении содержания в хромосомах «альбуминовых тел», т. е. белков. Это действительно так и происходит. Но в конце XIX в. цитологи открыли у некоторых животных крупные хромосомы, которые назвали «ламповыми щетками». В них не удавалось обнаружить наличие хроматина вообще. И в 1909 г. Э. Страссбургер отверг идею о том, что хроматин связан с наследственным материалом. В последнем издании своей книги Э. Вильсон за неимением новых фактов принял точку зрения Страссбургера.

Идея же о том, что нуклеиновые кислоты, возможно, являются просто депо фосфора в клетке, показалась убедительным альтернативным объяснением.

Так и получилось, что к тому моменту, когда были вновь открыты законы Г. Менделя, когда Т. Г. Морган создавал свою концепцию гена, когда рождалась генетика, нуклеиновые кислоты оказались исключенными из числа веществ, которые связывали с передачей наследственных признаков. Работы Э. Фишера, отстаивавшего представления о существовании веществ, обладавших и химической и биологической индивидуальностью, привели к тому, что единственным классом таких веществ стали считать белки.

И только в конце 40-х гг. было показано, что в хромосомах всегда присутствует количество ДНК, достаточное для передачи наследственных признаков, а также, что нуклеиновые кислоты обладают биологической специфичностью, т. е. так же как и белки обладают и химической и биологической индивидуальностью. И именно тогда, в конце 40—начале 50-х гг., когда уже была разработана концепция «двойной спирали» со всеми вытекающими из нее следствиями, мир науки полностью воздал должное гениальному открытию Ф. Мишера.

Второй цикл работ Ф. Мишера составляют его физиологические исследования.

Мишер трудился тогда, когда еще была жива память о всеохватывающем знании. Правда, ученых-энциклопедистов уже не существовало, даже биологов, одинаково сильных во всех областях биологии, практически не встречалось. Однако физиология еще казалась монолитной дисциплиной, ее дифференциация только началась. Этот процесс происходил в сложных условиях. Центр борьбы идей в биологии переместился в область физиологии. В. И. Ленин, критикуя в «Материализме и эмпириокритицизме» физический идеализм, отметил параллельные процессы в области физиологии. Противоборство материалистических и идеалистических концепций приобретало иногда запутанный и диалектически сложный характер. Однако эволюция методологических основ физиологии, внедрение в биологию экспериментальных методов, основанных на использовании физических и химических подходов, а также эволюция специфического биологического эксперимента с неизбежностью вели к формированию новых направлений в рамках экспериментальной биологии, прежде всего физиологии.

Мишер не только испытывал в начале своей научной деятельности

давление взглядов сторонников сохранения единой физиологии, но и активно воспринял идеи о редукционистском пути развития биологии клетки. Хотя полемика в печати между Ф. Гоппе-Зейлером и Э. Пфлюгером о статусе биологической химии имела место в 1877—1878 гг., безусловно, во время пребывания Мишера в Тюбингене эти вопросы активно обсуждались в лаборатории. При этом надо учитывать, что истоки идей Гоппе-Зейлера лежали в механистической концепции физиологии XIX в. Однако у него они оказались трансформированы — скорее это была попытка преодолеть затруднения механистической физиологии, в частности, путем вывода всей области, основанной на химическом эксперименте в приложении к биологическим объектам, за пределы классической физиологии. Э. Пфлюгер по-своему был прав, отстаивая значение теоретизирования в новой области, но на прежних широких физиологических основах. Трудность заключалась в том, что это теоретизирование подрывалось внешними факторами — слабым уровнем развития химии, прежде всего органической, которая только что получила теорию строения. Поэтому если методическая основа химии была достаточна для распространения ее на область биологии, то создание адекватной теории было еще делом будущего, причем зависело от накопления эмпирических фактов, явно редукционистских в системном отношении по сравнению с фактами общей физиологии.

Мишер впитал редукционистские идеи и Гиса, и Людвига, но одновременно он понимал, что наука не может быть только эмпирической, что обобщения необходимы на всех этапах ее развития. Именно поэтому ему удалось подняться до создания нового научного направления. Дж. Нидхэм в своей «Химической эмбриологии» прямо признавал, что работы Мишера были «первой попыткой химической эмбриологии».

Стремлением сохранить позиции в общей физиологии, не отрываться от важнейших физиологических исследований своего времени были, повидимому, вызваны и исследования по физиологии дыхания. Однако они не стоят особняком от его эмбриологических и цитохимических исследований. Дело в том, что его исследования образования спермы у лосося также привели к проблеме общего обмена веществ организма, и, естественно, роли в нем дыхания. Сейчас трудно сказать, как синтезировались в творчестве самого Мишера, казалось бы, столь различные направления исследований, как работы по цитохимии и эмбриологии и работы по дыханию в условиях высокогорья. Но отбрасывать предположение о том, что Мишер не зря, а специально осваивал методы изучения газообмена у К. Людвига, никак нельзя. Позднее его ученик Ф. Ферцар назовет его работу в Лейпциге «актом самосознания».

Процессы дыхания были изучены Ф. Мишером в те годы, когда подобные исследования проводились во всем мире ведущими физиологами. Интенсивные исследования физико-химических свойств крови проводились в лаборатории К. Людвига. Еще в 1865 г. последний опубликовал большую сводку, посвященную результатам, полученным им и его учениками. Результатом этих работ было заключение о зависимости химического связывания газов крови от напряжения растворенного газа. Впервые была

показана зависимость насыщения эритроцитов кислородом от содержания в крови углекислоты. В эти же годы в лаборатории Людвига русский биохимик А. А. Шмидт, создатель теории свертывания крови, изучал содержание в форменных элементах крови углекислоты и кислорода, обратив внимание на «дыхание внутри самой крови». Казалось бы, к тому моменту, когда Людвиг и его ученики приступили к работам по физиологии дыхания, основные представления об этом процессе были сформированы, но в них имелось множество пробелов. Людвига интересовали многие аспекты дыхания, не только перенос газов кровью, но и механизм дыхательных движений и соотношение между дыханием и кровообращением. Все это повлияло на планы Мишера.

Интересно отметить одну параллель. Путь Мишера (в том числе и его стремление освоить методику экспериментов по дыханию) проделал десятилетием ранее великий русский физиолог И. М. Сеченов. Он в 1856—1857 гг. в Берлине посещал лабораторию Ф. Гоппе-Зейлера, осваивая у него биохимические методики, а затем в 1858 г. переехал в Лейпциг, где в институте К. Людвига включился в исследования газов крови.

Характерно также, что к исследованиям газов крови Сеченов вновь возвратился лишь в 70-х гг., причем вновь посетил при этом Лейпциг, где просил К. Людвига и В. Оствальда помочь ему опубликовать статью на эту тему. Оствальд принял рукопись и опубликовал ее в Германии.

В эти же годы (60—70-е гг. XIX в.) блестящие исследования по физиологии дыхания и газам крови проводит во Франции П. Бер. Эти исследования были стимулированы интересом к начавшимся в те годы высотным полетам аэростатов. П. Бер был правительственным консультантом по обеспечению и организации полета аэростата «Зенит», достигшего высоты 8600 м. Этот полет закончился трагически: два аэронавта — Кроче-Спинелли и Сивель — погибли во время полета, в живых остался лишь один его участник Г. Тиссандье. Этот случай сильно стимулировал исследования особенностей дыхания в условиях недостатка кислорода. Известно, что на этот случай откликнулся Д. И. Менделеев, предложивший сооружать для подобных полетов герметические гондолы. Его идея была осуществлена в дальнейшем. И. М. Сеченов в автобиографических записках писал, что именно известие о гибели французских аэронавтов побудило его задуматься о причинах, по которым могли задохнуться эти люди на высоте свыше 8000 м.

Таковы были события, которые предшествовали началу исследований дыхания Ф. Мишером. Он задумывался над проблемой задолго до того, как появились его первые публикации на эту тему, что мы хорошо видим из его писем. Но только в 1885 г. он публикует статью, посвященную проблеме дыхательных движений. В 1938 г. Яндел Гендерсон, американский физиолог, отметил, что «блестящий швейцарский физиолог Мишер из Базеля» был первым, кто понял значение углекислоты в процессах регуляции дыхательных движений. Чувствительность к CO_2 Мишер определил впервые благодаря анализам альвеолярного воздуха (вдох и выдох в спирометр).

Он создает двойной спирометр (Мишера—Гайслера) и на основании

многочисленных экспериментов приходит к ряду выводов, которые оказались полностью подтвержденными лишь много лет спустя. Так, он обнаружил, что Apnoae зависит от снижения CO_2 в дыхательном центре, что было подтверждено Д. Холдейном и Д. Пристли только в 30-х гг. XX в.

Эти исследования в определенной мере смыкались с исследованиями функций селезенки у рейнского лосося и процессах динамики накопления и расходования крови в тканях. Но непосредственным их продолжением было изучение свойств крови в условиях высокогорья. Важно отметить при этом, что его всегда интересовало решение не частных, но общих проблем.

Так, когда он занялся изучением дыхания в разреженном воздухе, его интересовали общие вопросы снабжения кислородом тканей, перестройка обмена веществ в зависимости от тканевого дыхания, функциональная регуляция клеточного обмена веществ. Это был путь перехода от общей физиологии к общей биохимии.

Он был знаком с исследованиями П. Бера и его учеников, установивших, что на большой высоте число эритроцитов увеличивается. Мишер сразу увидел в этом типичный регуляторный механизм: таким образом сохранялся уровень тканевого дыхания, несмотря на снижение парциального давления CO_2.

Разрабатывать эту тему лично он уже не смог, но уговорил своих учеников поставить эксперименты на себе — провести подсчеты количества эритроцитов, отправившись в Альпы. Успешное завершение этих первых экспериментов привело к расширению исследований: Мишер включил своих самых сильных учеников, в том числе Ф. Зутера. Мишер делал доклады о работах своих учеников, а позднее следил за ними даже с больничной койки в Давосе. Окончательная публикация, включающая все задуманные им лично эксперименты, увидела свет только после его смерти.

В работах было отмечено, что повышение числа эритроцитов происходит уже на высоте 850 м над ур. моря. Основная причина — снижение парциального давления кислорода.

Э. Абдергальден, который интересовался проблемой дыхания в разреженном воздухе (в одной из его экспедиций принимал участие советский биохимик Е. С. Лондон), отмечая это открытие, назвал Мишера «гениальным и слишком рано ушедшим мастером». Этот вывод много позднее вошел во все учебники (в 40—50-х гг. XX в.) — тогда, когда авторов открытия уже обычно не цитируют. Через 18 лет после смерти Мишера его исследования послужили отправной точкой для работ Д. Баркрофта.

Доклад, который Мишер сделал в 1893 г., имел программное значение. Остается отметить, что идеи Мишера существенно влияли на развитие физиологических и биохимических исследований. Это влияние выглядит преуменьшенным сейчас, через сто лет после его смерти.

Кроме того, он имел личное влияние — его знали и почитали. Иначе трудно представить себе, почему I Международный физиологический конгресс проводился в «Везалиануме» и почему Мишер был назван его душой. В этом конгрессе участвовало 50 самых крупных физиологов того

времени. С докладом на нем выступил А. Я. Данилевский. Когда в 1938 г. XVI Международный физиологический конгресс снова проводился в Швейцарии (в нем принимало участие уже 2000 ученых), вновь были помянуты научные заслуги Мишера.

Не меньшим было его влияние как специалиста. Он был основателем кафедры физиологии в Базельском университете — строительство «Везалианума» его заслуга, не забытая до сих пор. Мишер сам понимал, что это лучшее научное учреждение того времени: первое специально построенное физиологическое научное учреждение Швейцарии.

Его труды цитировались в конце XIX в. и практически все попытки получения препаратов нуклеиновых кислот из новых источников так или иначе опирались на его основополагающие работы. Р. Альтман, введший наименование «нуклеиновые кислоты», был фактическим продолжателем его исследований.

Положение стало меняться лишь в первые годы нового века. Исследования нуклеиновых кислот пошли по новому руслу, причем совершенно закономерно: химики стали интересоваться их строением. Эти работы составили новый цикл исследований, уже оторвавшийся от первоначальных препаративно-биохимических работ Мишера. Кроме того, функции нуклеиновых кислот были неправильно оценены и линия их исследований оказалась оторванной от генетики, превратившись на какое-то, но достаточно длительное время в частный вопрос химии биополимеров.

В результате имя Мишера постепенно стало отходить в тень, но через 50 лет после его смерти оно вновь стало широко известно, причем значительно шире, чем при его жизни. А с конца 50-х гг. его открытие было причислено к числу важнейших открытий в биологии XIX в.

В самой Швейцарии сначала его роль в науке была скорее преуменьшена. Его ученики с обидой вспоминали, что во время похорон Мишера было прямо сказано, что он был скорее учителем, по не был большим умом — гордостью и славой поколений. Однако уже полвека спустя его соотечественники говорили, что, подобно тому как в 1705—1782 гг. три поколения семьи Бернулли открыли путь развитию физики и физиологии в Базеле, так в конце XIX в. три поколения семьи Мишер — Гис оказали решающее влияние на формирование эмбриологии, физиологии и биохимии.

Сейчас имя Мишера известно каждому студенту. Его труды давно признаны классическими, а сам он причислен к основателям биологической химии. Но не надо забывать, что его открытие значило для биологии больше — оно повлияло и на развитие генетики, а следовательно, изменило облик современной биологии значительнее, чем любое другое открытие XIX в. Рядом с Ф. Мишером можно поставить лишь еще одну фигуру — его современника Г. Менделя. Почти одновременно они сделали свои открытия, которые оказались сначала неоцененными и забытыми, но в конце концов заняли свое достойное место в числе важнейших вех в истории науки.

ЛИТЕРАТУРА

1. История XIX века. Т. 7. М.: ОГИЗ, 1939. 623 с.
2. *Miescher F.* Die Histochemischen und Physiologischen Arbeiten. Leipzig: Verlag von F. C. W. Fogel, 1897, Bd. 1. 138 S.
3. *Hoppe-Seyler F.* Ueber die chemische Zusammensetzung des Eiters.— Med. chem. Untersuchungen, 1871, 2, 486—501.
4. Friedrich Miescher. 1844—1895. Zum hundersten Geburtstag. Basel: Universität zu Basel, 1944. 49 S.
5. *Jaquet A.* Prof. F. Miescher.— Verhandl. Naturf. Ges. in Basel, 1894, **9**, H. 2, 1—11.
6. *Suter F.* Prof. F. Miescher. Personlichkeit und Lehrer.— Helv. Physiol. Pharm. Acta, 1944, **10**, Suppl. 2, 3—18.
7. *Вермель Е. М.* История учения о клетке. М.: Наука, 1970. 259 с.
8. *Mirsky A.* The discovery of DNA.— Scientific American, 1968, **218**, 76—88.
9. *Hertwig O.* Das problem der befruchtung und der isotropie des eies, eine theorie der vererbung.— Jenaische Zeitschr. Med. Wiss., 1855, 18, 276—318.
10. *Wilson E. B.* An Atlas of the fertilization and karyokinesis of the ovum. New York: MacMillan, 1895. 116 p.

ИМЕННОЙ УКАЗАТЕЛЬ

Аббе Э. (Abbe E.) 239
Абдергальден Э. (Abderhalden E.). 311
Аймер Т. (Eimer Th.) 77, 78
Альтман Р. (Altmann R.) 123, 130, 141, 142, 240, 250, 252, 253, 256, 262, 273, 275, 276, 302, 312
Анисимов В. Е. 260
Ауэрбах Л. (Auerbach L.) 75, 76
Ашер Л. (Ascher L.) 285

Бакст В. И. 271
Бакст Н. И. 271
Балловиц Э. (Ballowitz E.) 239
Барделебен К. (Bardeleben K.) 244
Баркрофт Д. (Barcroft J.) 311
Барфурт Д. (Barfurth D.) 107, 248
Бевер К. (Bewer K.) 9
Бёдекер К. (Boedecker C. H. D.) 15, 16
Бейеринк М. (Beyerinck M.) 300
Белозерский А. Н. 261, 262
Бём Р. (Böhm R.) 227, 267, 272—274, 276, 285, 295
Бер П. (Bert P.) 86, 93, 94, 97, 101, 102, 105, 106, 223, 310, 311
Бергман К. (Bergmann C.) 80
Бернар К. (Bernard C.) 106
Бернс А. (Berns A. W. S.) 91, 96, 100, 106
Бернулли Я. (Bernoulli J.) 279, 312
Бернштейн Ю. (Bernstein J.) 96, 97
Бертолле К. Л. (Berthollet C. L.) 53
Берцелиус Й. Я. (Berzelius J. J.) 110, 217, 237
Бессель Ф. В. (Bessel F.) 245
Биддер Ф. (Bidder F.) 189, 286
Билецкий Ю. (Biletzky J.) 105
Бишоф Т. Л. (Bischoff T. L.) 71
Боннэ Ш. (Bonnet Ch.) 279
Бор Хр. (Bohr Ch.) 285
Боудич Г. П. (Bowditch H. P.) 197, 272, 285, 286
Браславский П. И. 267
Браше Ж. (Brachet J.) 261
Брейер И. (Breuer J.) 88, 89, 97
Броун-Секар Ш. (Brown-Séquard Ch. E.) 92
Брунс П. (Bruns P.) 182
Брусянин Н. 270
Брюкке Э. (Brücke E.) 189, 286, 296
Будге А. (Budge A.) 285
Бунге Г. (Bunge G.) 108, 241, 248, 264, 265, 267, 293, 305
Бунзен Р. (Bunsen R. W.) 100, 132, 225
Буркарт Р. (Burkart R.) 105
Бухгейм Р. (Buchheim R.) 89, 267
Бючли О. (Bütschli O.) 300

Вагнер Н. (Wagner N.) 135
Валансьен А. (Valenciennes A.) 81, 219, 220, 222
Вальдейер В. (Weldeyer W.) 266, 303
ван Бенеден Э. (van Beneden E.) 224, 306
Варрентрапп Ф. (Warrentrapp F.) 23, 127, 168
Вейдеман И. (Weydemann J.) 294
Вейон Ф. (Veillon F.) 252
Вейсман А. (Weismann A.) 251, 306, 307
Вёлер Ф. (Wöhler F.) 281
Велкер Ф. (Walker F.) 59
Вермель Е. М. 266, 298, 313
Вилль Г. (Will H.) 23, 127, 168
Вильсон Э. (Wilson E.) 266, 307, 308, 313
Вирхов Р. (Virchow R.) 26, 81, 279
Воклен Л.-Н. (Vauquelin L.-N.) 37
Вольф Э. (Wolff E.) 253
Ворм Мюллер И. (Worm Müller I.) 75, 199, 212, 286
Ворошилов К. В. 271, 272
Воше Ж. (Vaucher J. P. É.) 279

Гад И. (Gad J.) 89, 92, 93, 105, 106
Гайслер Э. (Geissler E.) 310
Гален (Galenus, Claudius) 86
Гаскелл У. (Gaskell W.) 285
Гаммарстен О. (Hammarsten O.) 271, 285
Гауле Ю. (Gaule J.) 285
Гейденгайн Р. (Heidenhein R.) 305
Гельмгольц Г. (Helmholtz H.) 98, 106, 189, 286
Гендерсон Я. (Henderson Y.) 310
Генсен В. (Hensen V.) 215
Гепперт И. (Geppert J.) 97, 101, 106
Геринг П. (Hering P.) 88, 89, 97, 105
Гертвиг О. (Hertwig O.) 305, 306, 313
Геттгенс К. (Gähtgens K.) 206
Гийермон А. (Guillermont A.) 300
Гирке Э. (Gierke E.) 105
Гис В. (His W.) 7, 8, 25, 26, 28, 35, 65, 69, 70, 79, 82, 83, 107, 112, 121, 124, 150, 190, 197, 209, 259, 264, 265, 269—276, 280—283, 286—289, 295, 299, 300, 304, 305, 309, 312
Гис Ш. А. (His Ch. A.) 280
Глязер Ф. см. Глязер-Йоханнес Ф.
Глязер-Йоханнес Ф. (Glaser-Johannes F.) 33, 34, 107, 110, 117, 126, 234, 289
Глазиветц Г. (Hlasiwetz H.) 220

Гмелин Б. (Gmelin B.) 129, 135, 247, 252—254, 268
Гобли Н. Т. (Gobley N. T.) 37, 108
Гоппе-Зейлер Ф. (Hoppe-Seyler F.) 11—13, 16, 17, 25, 26, 30—32, 90, 92, 111, 178, 179, 182—184, 187, 192, 196, 253, 259, 260, 262, 264, 267, 270—274, 282—284, 286, 296—301, 308, 310, 312
Гофмейстер В. (Hofmeister W.) 296, 303
Грэхем Дж. (Graham J. C.) 91
Гроэ Ф. (Grohe F.) 58, 59
Гутман П. (Guttmann I.) 105

Данилевский А. Я. 311
Дарвин Ч. (Darwin Ch.) 246
Дарси Э. (Dursy E.) 26, 28
Дастр А. (Dastre A.) 116
Де Фриз Г. (De Vries H.) 247
Декандоль А. (De Candolle A.) 279
Декандоль О. П. (De Candolle A. P.) 279
Догель И. М. 271, 285
Домен В. (Dohmen W.) 86, 93, 94, 102, 105
Дондерс Ф. (Donders F. C.) 91
Дрексель Э. (Drechsel E.) 271, 285
Дьяконов К. С. 15, 260
Дю Буа Реймон Э. (Du Bois-Reymond E.) 189, 282, 286
Дюжарден Ф. (Dujardin F.) 296

Жаке А. (Jaquet A.) 108, 249, 292, 313
Жирар Ж. (Girard J.) 279

Захариас Э. (Zacharias E.) 145. 306, 307,
Зибольд К. Т. (Siebold C. T.) 69
Зигмунд Б. (Siegmund B.) 57, 58, 212
Зутер Ф. (Suter F.) 252, 295, 311, 313

Иванов В. Т. 261
Изелин И. (Iselin I.) 295
Иммерман Г. (Immermann H.) 206

Каммерер Г. (Kammerer G.) 293
Кариус Г. (Carius G.) 149
Касперсон Т. (Caspersson T.) 261
Кедровский Б. В. 261
Кекуле А. (Kekulé A.) 261
Кёлер Г. (Köhler H.) 94
Кёлликер А. (Köllicker A.) 37, 58, 60, 61, 65, 75, 83, 221, 274, 286, 306
Кеппе А. (Keppe A.) 253
Клебс Э. (Klebs E.) 26
Клетцинский В. (Kletzinsky V.) 264
Клоетта М. (Cloetta M.) 128, 142
Кноль Ф. (Knoll F.) 87, 88, 92, 96, 100, 105, 106
Ковалевская-Зазерская Е. Ф. 302
Ковалевский Н. О. 285
Кольман И. (Kollmann J.) 115
Кон Ф. (Kohn F.) 296
Конюшая Р. П. 271
Коппе Р. (Koppe R.) 267
Коссель А. (Kossel A.) 109, 110, 131, 144, 247, 250, 253, 262, 265, 272, 302
Котс Р. (Coats R.) 89
Кох К. (Koch K.) 9
Краузе В. (Krause W.) 281
Крачмер Ф. (Kratschmer F.) 91
Крис фон, И. (Kris von, I.) 285
Кронекер Г. (Kronecker H.) 105, 272, 285
Кроче-Спинелли Дж. (Crocé-Spinelli J.) 310
Крю де, Ф. (Cru de, F.) 278
Куссмауль Г. (Kussmaul H.) 86, 93, 99, 102
Кьельдаль Ю. Г. (Cjeldahl J. G.) 135, 143, 162
Кюльц Э. (Külz E.) 122
Кюне В. (Kühne W.) 14, 20, 40, 66, 84, 168, 189, 227, 271, 274, 282, 285, 286

Ла Валетт А. (La Valette A.) 172
Лангендорф А. (Langendorff A.) 87, 105
Лангенбрук И. (Langenbruck I.) 252
Лёвен Х. (Löwen Ch). 285
Левин Ф. (Levin Ph.) 263
Легаллуа Ж. (Lagallois J.) 84
Лейкарт Р. (Leuckart R.) 26
Леман К. (Lehmann C.) 80, 81, 260
Ленин В. И. 308
Ленинджер А. (Lehninger A.) 274
Либеркюн Н. (Lieberkühn N.) 223
Либермайстер К. (Liebermeister C.) 293
Либерман О. (Liebermann O.) 110, 237, 265, 275
Либих Ю. (Liebig J.) 134, 257, 282, 304
Либрайх О. (Liebreich O.) 16
Линдгрен Я. (Lindgren Hj.) 77
Линкрус Э. 266
Лодер-Брантон Т. (Loder-Branton T.) 285
Ломбард У. (Lombard J. S.) 285
Лондон Е. С. 311
Лонже Т. (Longet T.) 58
Лоос Д. Б. (Loos J. B.) 116
Лоренц И. (Lorenz I.) 135
Лунин Н. И. 293
Любавин Н. Н. 192, 261, 262, 270, 271, 273
Людвиг К. (Ludwig C.) 186, 187, 190, 198—201, 215, 259, 264, 271, 272, 274, 285, 286, 288, 305, 309, 310
Лючиани Л. (Luciani L.) 285

Маккаллум Д. (MacCallum J.) 249
Малль Ф. (Mahll F.) 285
Манойленко К. В. 266
Марквальд Ф. (Marckwald F.) 105
Маркс К. (Marx K.) 271

Маркузе А. (Marcuse A.) 105
Мейснер Г. (Meissner G.) 260
Меккель фон Гемсбах Г. (Meckel von Hemsbach G.) 26
Менделеев Д. И. 310
Мендель Г. (Mendel G.) 263, 290, 308, 312
Мериан П. (Merian P.) 107
Мечников И. И. 116
Метцнер Р. (Metzner P.) 174
Мигула В. (Migula W.) 300
Миллон Э. (Millon E.) 28, 40, 41, 46—48, 56, 62—65, 73, 74, 110, 123, 161, 169, 204, 208
Мильн-Эдвардс А. (Milne-Edwards H.) 254
Мирский А. (Mirsky A.) 298, 305, 313
Мишер Й. (Miescher J.) 279, 280, 299
Мишер Ф. (Miescher F.) 7, 8, 122, 123, 125—128, 135, 140, 141, 165, 170—172, 174, 175, 177, 179, 197, 259—305, 307—312
Моль фон, Г. (Mohl von, H.) 296
Мора Ж. (Morat J. P.) 116, 123
Морган Т. Г. (Morgan T. H.) 307, 308
Моссо А. (Mosso A.) 272, 285
Мульдер Г. Я. (Mulder G. J.) 37
Мюллер В. (Müller W.) 93, 94, 101, 102, 106, 233
Мюллер Й. (Müllar J.) 80, 85, 279, 298
Мюллер Ф. (Müller F.) 134

Наполеон Бонапарт 280
Наполеон III 271
Негели К. (Nägeli C.) 222
Нейман А. (Neumann A.) 144, 223, 226
Несслер Ю. (Nessler J.) 39, 154
Нидхэм Дж. (Needham J.) 309
Ничман Г. (Nitschmann H.) 105

Оболенский И. Н. 195
Овсянников Ф. В. 34, 35, 285
Окс П. (Ochs P.) 280
Оствальд В. (Ostwald W.) 310

Павлов И. П. 271, 285
Парке Ж. (Parke J. L.) 15, 30, 111
Пастер Л. (Pasteur L.) 282, 303
Пашутин В. В. 271, 285
Песталоцци И. Г. (Pestalozzi J. H.) 279
Пешель И. (Peschel I.) 126
Пикар Ж. (Piccard J.) 66, 127, 128, 131, 263
Плос П. (Plósz P.) 65, 192, 260, 270, 271, 283, 284
Покровский В. (Pokrowsky W.) 94
Прингсгейм Н. (Pringsheim N.) 215
Пристли Д. (Pristley J.) 310
Пуркинье Я. Э. (Purkyně J. E.) 296, 298
Пфеффер В. (Pfeffer W.) 96, 106
Пфлюгер Э. (Pflüger E.) 86, 89, 90, 93, 94, 101, 186, 187, 190, 261, 308, 309

Радлькофер Л. (Radlkofer L.) 81, 82, 222
Рауль Ф. (Raoult F.) 104, 106
Рах Э. (Rach E.) 86
Рейхерт К. Б. (Reichert K. B.) 75
Реклингаузен Г. (Recklinghausen G.) 189, 286
Ремак Р. (Remak R.) 75
Ровида К. Л. (Rowida C. L.) 10—14
Розенбах И. (Rosenbach I.) 92, 106
Розенталь И. (Rosenthal I.) 86, 87, 91, 94, 105
Рокитанский К. (Rokitansky K.) 105
Ротерт В. А. 266
Ротшу К. (Rothschuh K.) 285
Ру В. (Roux W.) 303
Рубнер М. (Rubner M.) 271, 285
Руднев М. (Rudnew M.) 20
Ружичка В. (Ružička W.) 300
Рунне Ф. (Runne F.) 126
Руссов Э. (Russow E.) 266
Руфус Эфесский 86

Сакс фон, Ю. (Sachs von, J.) 306
Сальвенмозер А. (Salvenmoser A.) 190, 199
Сенебье Ж. (Senebier J.) 279
Сенармон П. (Senarmon P.) 81
Сеченов И. М. 190, 271, 285, 310
Сивель Т. (Sivel Th.) 310
Силецкий А. (Siletzky A.) 93
Соссюр Т. (Saussure N. T.) 279
Социн К. А. (Socin C. A.) 71
Стирлинг У. (Stirling W.) 285
Страссбургер Э. (Strassburger E.) 286, 306—308

Теннер А. (Tenner A.) 86, 93, 99, 102
Тигерштедт Р. (Tiegerstedt R.) 285
Тири Л. (Thiry L.) 86, 89, 94, 105, 106
Тиссандье Г. (Tissandier G.) 310
Трамбле А. (Trambley A.) 279
Траубе Л. (Traube L.) 84, 87, 88, 93, 94, 100, 105, 106
Трескин И. (Treskin I.) 61
Троншен Г. (Tronchen G.) 279

Уэлч У. (Welch W.) 285
Унгер Ю. Б. (Unger J. B.) 204
Унтербергер Ф. А. 271
Уоллер О. (Waller A.) 285

Фальк К. (Falck C.) 91
Фейльген Р. (Feulgen R.) 305
Фелинг Г. (Fehling H.) 122
Фелленберг фон, Э. (Fellenberg von, E.) 279

Фёрстер А. (Förster A.) 13, 135
Фик А. (Fick A.) 285
Филене В. (Filehne W.) 90, 92
Финклер Д. (Finkler D.) 91, 106
Фирордт К. (Vierordt K.) 86, 98, 100, 105, 106
Фишер Л. (Fischer L.) 15, 16
Фишер Э. (Fischer E.) 274, 304, 305, 308
Флеминг В. (Flemming W.) 286, 303, 306
Фогт К. (Vogt C.) 80, 254
Фойт К. (Voit C.) 189, 235, 274, 286
Фойт Э. (Voit E.) 271, 285
Фоль Г. (Fol H.) 305, 306
Фолькман А. В. (Volkmann A. W.) 86, 105
Фостер М. (Foster M.) 305
Франк О. (Frank A. B.) 285
Фредерик Л. (Fréderiсq L.) 91, 92, 105, 106
Фрей фон, М. (Frey von, M.) 285
Фреми Э. (Frémy E.) 81, 82, 219, 220, 222
Френкель Б. (Fränkel B.) 97, 101, 106
Фрерихс Ф. (Frerichs F.) 37, 61, 203
Фридлендер М. (Friedländer M.) 86, 93, 94, 102, 105
Фуркруа А. (Fourcroy A. F.) 37

Хагенбух Г. (Hagenbuch H.) 66
Халлер А. (Haller A.) 279
Харнак Э. (Harnack E.) 267
Хассе К. (Hasse K.) 281
Хейнзиус Г. (Heynsius H.) 11
Хиршвальд И. (Hirschwald I.) 190—192
Хертер П. (Herter P.) 86, 90, 92—94, 101, 102, 105
Холдейн Дж. (Haldane J.) 310
Холл М. (Hall M.) 87, 100
Холмгрен Ф. (Holmgren F.) 272, 285
Хорсли В. (Horsley W.) 285
Хорст Г. (Horst G.) 11
Хугельсхофер И. (Hugelshofer I.) 71
Хюфнер Г. (Hüfner G.) 51, 131, 187, 197, 213, 272, 285, 293

Цейсс К. (Zeiss C.) 145, 146, 239
Цетнов Э. (Zettnow E.) 300
Циммерман И. (Zimmermann I.) 279
Цион И. Ф. 271, 285
Цунц Н. (Zuntz N.) 104

Чеснокова С. А. 271
Чистяков И. Д. 266
Читтенден Р. (Chittenden R.) 168, 271, 285

Шамин А. Н. 260, 261, 272
Шаудин Ф. (Schaudinn F.) 300
Швайгер-Зайдель Ф. (Schweigger-Seidel Fr.) 58, 59, 66, 197
Шванн Т. (Schwann T.) 279
Шварц Э. (Schwarz E.) 85, 105, 281
Шенбайн Х. Ф. (Schönbein Ch. F.) 44
Шереметьевский Ф. П. 271
Шефер Э. (Schäfer E.) 271, 285
Шифф Г. (Schiff H.) 87, 105
Шишков Л. Н. 261
Шлёзинг Т. (Schlösing Th.) 141
Шлейден М. (Schleiden M.) 266
Шмидеберг О. (Schmiedeberg O.) 8, 89, 133, 206, 248, 259, 263, 267, 269, 272, 273, 285, 286, 289, 295, 296
Шмидт А. А. 186, 202, 271, 285, 304
Шмидт К. 186, 286
Шпейер Э. (Speyer E.) 217
Шпейр фон, А. (Speyr von, A.) 41
Шокке Г. (Zschokke H.) 107
Шорлеммер К. (Schorlemmer C.) 261
Штадлин Ф. К. (Stadlin F. K.) 279
Штеделер Г. (Staedeler G.) 195
Штейдель Г. (Steudel H.) 262, 303
Штрекер А. (Strecker A.) 259, 282, 283
Штрикер С. (Stricker S.) 26, 75

Эбнер фон, В. (Ebner von, V.) 172, 223, 226
Эвальд Л. (Ewald C.) 89, 90, 91, 227
Эйлер Л. (Euler L.) 279
Эйнбродт П. П. (Einbrodt P. P.) 271
Эйхвальд Э. (Eichwald E.) 19, 260
Экхард К. (Eckhard C.) 285
Энгельман Т. (Engelmann T. W.) 60
Энгельс Ф. (Engels F.) 261
Эрлих П. (Ehrlich P.) 99, 104, 106
Эртман К. (Oertmann C.) 91, 106
Эсмарх Ф. (Esmarch F.) 103

Юбер Ф. (Huber F.) 279

Янко Я. (Janko J.) 264

СОДЕРЖАНИЕ

От редакции 7

ТРУДЫ

О химическом составе клеток гноя (*пер. Е. А. Яновской*) 9

Ядерные структуры в желтке куриного яйца (*пер. Е. А. Яновской*) 25

Дополнительные замечания (*пер. Е. А. Яновской*) 31

Сперматозоиды некоторых позвоночных. Гистохимические исследования (*пер. Е. А. Яновской*) 33

О яйце (*пер. Е. А. Яновской*) 78

Замечания к учению о дыхательных движениях (*пер. Е. А. Яновской*) 84

Биологические исследования о жизни рейнского лосося в пресной воде (*пер. Е. А. Яновской*) 106

Физиологические фрагменты о рейнском лососе (*пер. Е. А. Яновской*) 122

Физиолого-химические исследования молоки лосося (*пер. Н. С. Гельман*) 124

Протамин — новое органическое основание из сперматозоидов рейнского лосося (*пер. Н. С. Гельман*) 175

НАУЧНАЯ ПЕРЕПИСКА

Открытие и изучение нуклеина. 1869—1870. Письма I—XV (*пер. Н. С. Гельман*) 178

Лаборатория К. Людвига. 1869—1870 и 1894—1895. Письма XVI—XXIV (*пер. Н. С. Гельман*) 198

Первая работа по сперме. 1871—1874. Письма XXV—XXXVI (*пер. Н. С. Гельман*) 201

Гистохимические исследования. 1875—1895. Письма XXXVII—LXXXIII (*пер. Н. С. Гельман*) 214

Различные письма общего содержания. 1871—1895. Письма LXXXIV—LXXXVI (*пер. Н. С. Гельман*) 256

ПРИЛОЖЕНИЯ

Комментарии (*А. Н. Шамин*) 259

Фридрих Мишер (1844—1895). Очерк жизни и творчества (*А. Н. Шамин*) 277

Именной указатель 314

Фридрих Мишер

Труды по биохимии

Утверждено к печати
Редакционной коллегией серии
«Классики науки»

Редактор издательства *Н. Ф. Промашкова*
Художественный редактор *И. Ю. Нестерова*
Технический редактор *О. М. Гуськова*
Корректоры *Л. Р. Мануильская, Н. А. Несмеева*

ИБ № 29031

Сдано в набор 29.12.84
Подписано к печати 12.07.85
Формат $70 \times 90^1/_{16}$
Бумага книжно-журнальная импортная
Гарнитура обыкновенная
Печать высокая
Усл. печ. л. 23,55. Усл. кр. отт. 24,86
Уч.-изд. л. 24,8. Тираж 1900 экз.
Тип. зак. 1115. Цена 4 р. 20 к.

Ордена Трудового Красного Знамени
издательство «Наука»
117864, ГСП-7, Москва, В-485, Профсоюзная ул., 90

2-я типография издательства «Наука»
121099, Москва, Г-99, Шубинский пер., 6

В ИЗДАТЕЛЬСТВЕ «НАУКА»
готовится к печати:

КРЕТОВИЧ В. Л.

Введение в энзимологию

3 р.

В книге на современном уровне изложены основные положения энзимологии. Рассмотрены структура ферментных белков, методы их выделения, очистки и определения, характеристика коферментов, основные положения кинетики ферментативного катализа, специфичность и механизм действия ферментов, принципы их классификации. Включена новая глава о применении ферментов в промышленности, сельском хозяйстве и медицине. Книга переработана с учетом новейших достижений энзимологии.

Для научных и практических работников биотехнологии и сельского хозяйства.

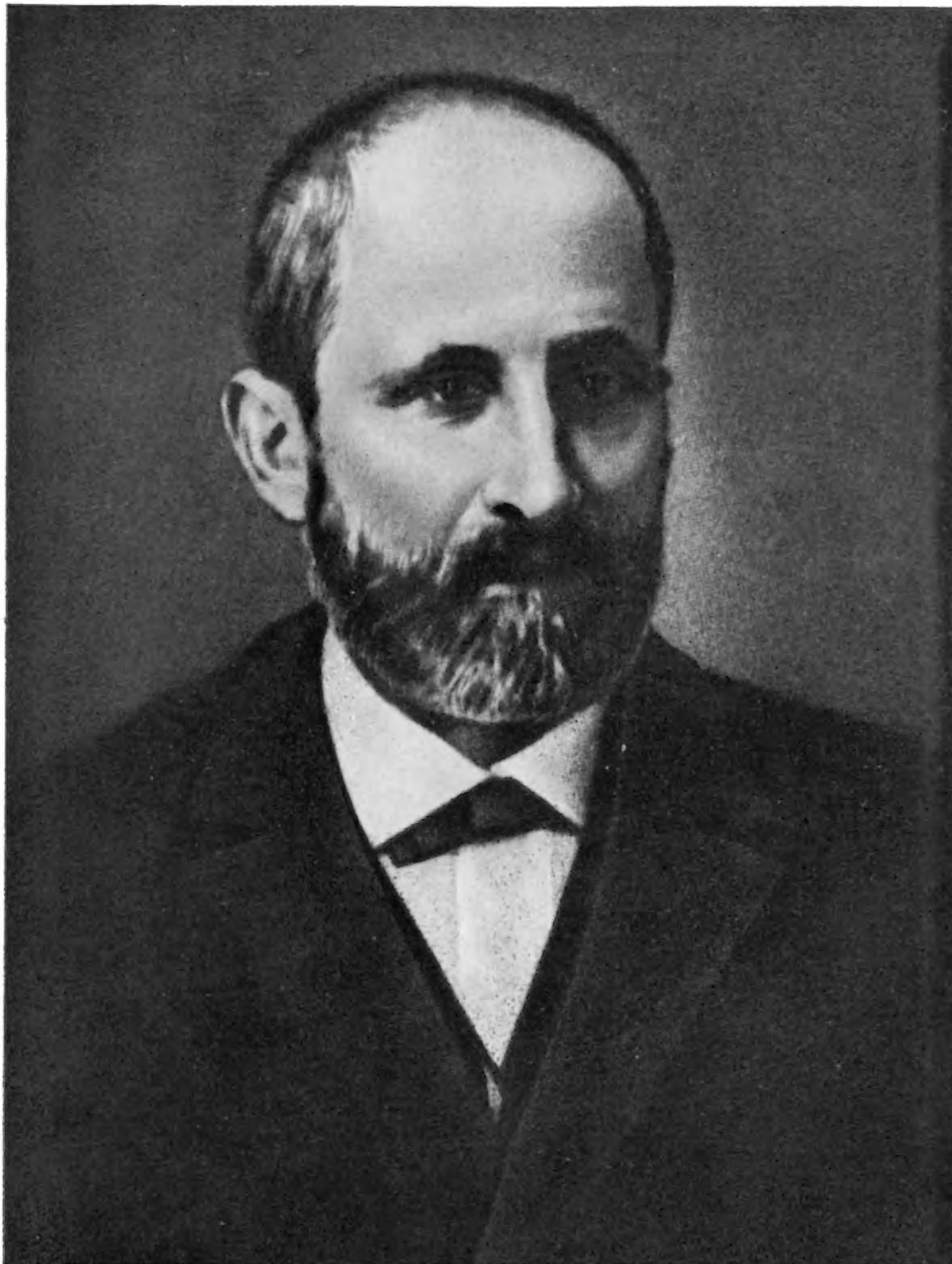
Книги можно предварительно заказать в магазинах Центральной конторы «Академкнига», в местных магазинах книготоргов или потребительской кооперации без ограничения.

Для получения книг почтой заказы просим направлять по адресу:

117192 Москва, Мичуринский проспект, 12, магазин «Книга — почтой» Центральной конторы «Академкнига»;

197345 Ленинград, Петрозаводская ул. 7, магазин «Книга — почтой» Северо-Западной конторы «Академкнига»

или в ближайший магазин «Академкнига»



ФРИДРИХ МИШЕР

(1844–1895)

Ф. МИШЕР

